



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

**OCORRÊNCIA DE PARASITAS GASTROINTESTINAIS EM DOIS GRUPOS DE
Chinchilla lanigera NO NORTE DE PORTUGAL**

RITA SOFIA DIAS TEIXEIRA

CONSTITUIÇÃO DO JURÍ

Doutora Isabel Maria Soares Pereira da
Fonseca de Sampaio
Doutora Sandra de Oliveira Tavares de
Sousa Jesus
Dr. Joel Tsou Ferraz

ORIENTADOR

Dr. Joel Tsou Ferraz

CO-ORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

2013
LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

**OCORRÊNCIA DE PARASITAS GASTROINTESTINAIS EM DOIS GRUPOS DE
Chinchilla lanigera NO NORTE DE PORTUGAL**

RITA SOFIA DIAS TEIXEIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JURÍ

Doutora Isabel Maria Soares Pereira da
Fonseca de Sampaio

Doutora Sandra de Oliveira Tavares de
Sousa Jesus

Dr. Joel Tsou Ferraz

ORIENTADOR

Dr. Joel Tsou Ferraz

CO-ORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

2013
LISBOA

*À minha mãe e ao meu pai,
pelo seu amor incondicional e apoio fundamental
que proporcionaram este momento.*

*Ao Luís,
pelo amor, a lua e os sorrisos partilhados
e a paciência infinita de quem espera.*

AGRADECIMENTOS

A conclusão desta dissertação é o fim de um caminho iniciado há muito, percorrido devagar mas com passadas seguras, ultrapassando obstáculos e intempéries, mas de rumo sempre definido e orientado por muitos a quem devo meu maior agradecimento.

Ao Professor Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho, primeiro por me revelar o mundo da parasitologia, que tanto me fascinou, e por mais tarde me permitir “parasitá-lo” com dúvidas e questões, algumas tão práticas quanto outras quase existenciais, que culminaram na finalização desta dissertação.

Ao Dr. Joel Ferraz e restante da equipa do CVEP, Dra. Rute Almeida, Dra. Francisca Gonçalves e Enfermeira Vanessa Morais, por tudo o que me ensinaram, e a todos, incluindo os estagiários, pelas gargalhadas que partilhámos e pelo fantástico ambiente e convivência diária.

Ao Dr. Andrés Montesinos e restante equipa do Centro Veterinário Los Sauces, Dra. María Ardiaca, Dra. Cristina Bonvehí, Dra. Sara Barrera, Dra. Marina Cuesta, Dra. Alícia Gomez e auxiliares Myriam Rodríguez, Elvira Morán, Virginia González e Laura Ayello, por tudo o que partilharam comigo, e acima de tudo por me fazerem sentir em casa quando a minha estava tão longe.

À minha família, por serem a base forte em que pude crescer e tornar-me a pessoa que sou hoje, por serem a minha rede de segurança e, ao mesmo tempo, me darem a liberdade de abrir as asas e voar, mas nunca só.

A todos os meus colegas e aos verdadeiros amigos, aqueles com que sempre pude contar e que partilharam comigo os melhores e piores momentos, com um agradecimento especial à Ana Rute Oliveira, Carolina Lopes, Catarina Machado e Sofia Palacim Sousa, por tornarem estes últimos seis anos ainda mais espetaculares e especiais.

Em último lugar, mas com particular sentimento, ao Sisson e à Sushi, que me transmitiram saberes que não se encontram nos livros ou sebatas, e fizeram estes seis anos ter um sabor especial.

RESUMO

OCORRÊNCIA DE PARASITAS GASTROINTESTINAIS EM DOIS GRUPOS DE *Chinchilla lanigera* NO NORTE DE PORTUGAL

As chinchilas são roedores originários da América do Sul cuja presença no mercado dos animais domésticos tem aumentado nos últimos anos. Apesar de poderem albergar vários parasitas zoonóticos (*Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium* sp. e *Rodentolepis nana*), pouco se sabe sobre o seu real impacto na saúde pública. Este estudo teve como objetivo avaliar a prevalência destes parasitas em chinchilas em território português, identificar os fatores de risco e a sensibilidade das técnicas utilizadas na sua deteção.

Foram recolhidas um total de 44 amostras de fezes de chinchilas pertencentes a dois grupos, que foram analisadas segundo as técnicas de exame direto através de esfregaço fecal, flutuação passiva com sulfato de zinco e flutuação centrifugada com sulfato de zinco e solução de Sheather. Na análise estatística foi utilizado o teste de Fisher para procurar associações entre os resultados obtidos e diferentes variáveis.

Foi identificada a presença de *Giardia* sp. em 35,2% (IC 95%: 18,7%-54,6%) das amostras do grupo A e 92,3% (IC 95%: 65,8-99,6%) no grupo B, não tendo sido observadas formas de *Cryptosporidium* sp., *Rodentolepis nana* ou outros parasitas em nenhuma das amostras. Não foram encontradas associações estatisticamente relevantes entre a prevalência e o tipo de amostra (conjunta ou individual), o número de indivíduos por jaula ou o sexo ($p > 0,05$), mas sim entre a prevalência e o grupo etário, revelando os animais mais jovens uma maior suscetibilidade à infeção ($p < 0,05$). Também as fêmeas gestantes/pós-parto parecem estar mais predispostas à ocorrência de giardiose, apresentando cargas parasitárias mais elevadas, apesar de não ter sido encontrada uma diferença estatisticamente relevante ($p > 0,05$).

Entre as técnicas avaliadas, o exame direto revelou-se a técnica mais eficaz para o diagnóstico de giardiose em chinchilas, permitindo a avaliação da carga parasitária existente; cargas parasitárias acima de 2 quistos/campo são consideradas excessivas e, nesta situação, o animal deve ser desparasitado para prevenir eventuais episódios de giardiose. O exame direto deve também ser utilizado em estudos de prevalência de *Giardia* sp. nesta espécie de hospedeiro, já que as técnicas de flutuação resultam em falsos negativos associados a amostras com cargas parasitárias inferiores a 0,3 quistos/campo ($p < 0,05$).

Palavras-chave: Chinchila, *Giardia*, parasita, prevalência, zoonose, Portugal.

ABSTRACT

SURVEY OF GASTROINTESTINAL PARASITES IN TWO GROUPS OF *Chinchilla lanigera* IN NORTHERN PORTUGAL

Chinchillas are rodents native from South America that have been increasingly used as pets in the past years. Although these animals can harbour some species of zoonotic parasites (*Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium* sp. and *Rodentolepis nana*), very little is known about its real effect on public health. Therefore, the objective of the present study was to evaluate the prevalence of the fore mentioned parasites in chinchillas in Portugal, to identify risk factors and to evaluate the sensibility of different techniques regarding the detection of these parasites.

A total of 44 samples of chinchilla faeces were collected from two distinct groups. These samples were examined using direct wet faecal smear, faecal flotation with zinc sulphate and centrifuged flotation with both zinc sulphate and Sheather's sugar solution. Fisher's exact test was used to evaluate statistical association between obtained results and other variables.

Giardia sp. was found in both groups, being the only parasite identified in this study, with no records of *Cryptosporidium* sp. or *R. nana*. The prevalence of *Giardia* sp. was 35,2% (CI 95%: 18,7%-54,6%) in group A and 92,3% (CI 95%: 65,8-99,6%) in group B. No statistical association was found between prevalence and individual or group samples, group size per cage or gender ($p>0,05$). There was however a significant difference regarding prevalence between age groups, with a higher infection rate among young animals ($p<0,05$). Although no statistical significant difference was found ($p>0,05$), pregnant/post-partum females also showed greater predisposition to giardiasis, exhibiting a higher parasite load.

Among the evaluated coprologic methods, the direct wet smear revealed to be the most effective technique for the diagnosis of giardiosis in chinchillas, allowing evaluation of the existing parasite load. Parasite burdens greater than two cysts/field are considered to be excessive and affected animals should be treated against *Giardia* sp. to prevent impending episodes of giardiosis. The direct wet smear should also be used in *Giardia* sp. prevalence studies in this species, as false negatives may occur in flotation techniques whenever parasite loads are as low as 0,3 cysts/field ($p<0,05$).

Keywords: Chinchilla, *Giardia*, parasite, prevalence, zoonosis, Portugal.

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	i
RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
ÍNDICE GERAL	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABELAS	vii
ÍNDICE DE GRÁFICOS	vii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
 INTRODUÇÃO.....	 1
 I. Atividades desenvolvidas no estágio curricular	 2
 II. Revisão bibliográfica.....	 6
1. <i>Chinchilla lanigera</i> : descrição geral	6
1.1 História.....	6
1.2 Anatomia e fisiologia	8
1.2.1 Sistema digestivo.....	9
1.2.2 Aparelho reprodutor	9
1.3 Nutrição.....	11
1.4 Etologia	11
2. Parasitas gastrointestinais das chinchilas	12
2.1 <i>Giardia</i> spp.....	12
2.1.1 Biologia e epidemiologia.....	12
2.1.2 Taxonomia e potencial zoonótico.....	13
2.1.3 Infecção por <i>Giardia</i> spp. em chinchilas	15
2.1.3.1 Prevalência e potencial zoonótico	15
2.1.3.2 Diagnóstico.....	16
2.1.3.3 Tratamento e profilaxia	17
2.2 <i>Cryptosporidium</i> spp.....	17
2.2.1 Biologia e epidemiologia.....	17
2.2.2 Taxonomia e potencial zoonótico.....	18
2.2.3 Infecção por <i>Cryptosporidium</i> spp. em chinchilas.....	20
2.2.3.1 Prevalência e potencial zoonótico	20
2.2.3.2 Diagnóstico.....	21
2.2.3.3 Tratamento.....	22
2.3 <i>Rodentolepis nana</i> (= <i>Hymenolepis nana</i>)	22
2.3.1 Biologia	22

2.3.2 Hospedeiros e potencial zoonótico	23
2.3.3 Infecção por <i>Rodentolepis nana</i> em chinchilas	24
2.3.3.1 Prevalência e potencial zoonótico	24
2.3.3.2 Diagnóstico	24
2.3.3.3 Tratamento e profilaxia	24
2.4 Outros parasitas gastrointestinais	24
III. Ocorrência de parasitas gastrointestinais em dois grupos de <i>Chinchilla lanigera</i> no norte de Portugal	26
1. Objetivos	26
2. Material e métodos	26
2.1 Locais de amostragem	26
2.1.1 Grupo A.....	26
2.1.2 Grupo B.....	27
2.2 Amostragem.....	27
2.2.1 Grupo A.....	27
2.2.2 Grupo B.....	27
2.3 Processamento e técnicas coprológicas	28
2.4 Análise estatística	28
3. Resultados	28
3.1 Grupo A	28
3.1.1 Prevalência por tipo de amostra	29
3.1.2 Prevalência por grupo etário	30
3.1.3 Prevalência por sexo	30
3.2 Grupo B	30
3.2.1 Carga parasitária	31
3.3 Sensibilidade das técnicas coprológicas	32
3.4 Valores reais de prevalência	32
4. Discussão.....	32
4.1 Prevalência de <i>Giardia</i> sp.....	33
4.1.1 Prevalência por tipo de amostra	34
4.1.2 Prevalência por grupo etário	34
4.1.3 Prevalência por sexo	34
4.2 Carga parasitária	35
4.2.1 Carga parasitária inócua.....	35
4.2.1 Carga parasitária e a gestação	35
4.2 Sensibilidade das técnicas coprológicas	35
5. Conclusão	36

BIBLIOGRAFIA	38
ANEXO 1 – Caracterização das amostras	42
ANEXO 2 – Protocolo de flutuação passiva	44
ANEXO 3 – Protocolo de flutuação centrifugada em centrífuga de ângulo fixo.....	45
ANEXO 4 – Imagens obtidas no estudo prático	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Coccídeas detetadas em exame direto em fezes de canário (<i>Carduelis carduelis</i>).	3
Figura 2 – Oxiurídeo nas fezes de um dragão barbudo (<i>Pogona vitticeps</i>).	3
Figura 3 – Imobilização de asa em 8 e ao corpo em ganso doméstico (<i>Anser anser</i>).	4
Figura 4 – Contenção anestésica de um gecko tokay (<i>Gekko gecko</i>) para imobilização de uma fratura num membro posterior.	5
Figura 5 - Distribuição geográfica das chinchilas no passado.	6
Figura 6 – Aspeto geral de uma chinchila doméstica.	8
Figura 7 – A. Genitália externa normal de um fêmea de chinchila com orifício vaginal encerrado por uma membrana (b), entre a papila uretral (a) e o ânus (c); B. Genitália externa normal de um fêmea de chinchila em estro, onde se pode observar o orifício vaginal aberto (d).	10
Figura 8 – Ciclo de vida de <i>Giardia</i> spp.	12
Figura 9 – Ciclo de vida de <i>Cryptosporidium</i> spp.	18
Figura 10 – Ovo de <i>Rodentolepis nana</i> em exame fecal directo.	23
Figura 11 – Quisto de <i>Giardia</i> sp. (seta) em exame direto.	46
Figura 12 – Quisto de <i>Giardia</i> sp. (seta) em exame direto.	46
Figura 13 – Quisto de <i>Giardia</i> sp. (seta) em exame direto.	47
Figura 14 – Quistos deformados de <i>Giardia</i> sp. (setas) em flutuação passiva com sulfato de zinco.	47
Figura 15 – Quisto deformado de <i>Giardia</i> sp. (seta) em flutuação centrifugada com solução de Sheather.	48
Figura 16 – Quistos de <i>Giardia</i> sp. (setas) em flutuação centrifugada com solução de Sheather.	48

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Espécies e assemblages do género <i>Giardia</i> e seus principais hospedeiros.	14
Tabela 2 – Espécies do género <i>Cryptosporidium</i> aceites pela comunidade científica, seus hospedeiros e principal local de invasão epitelial.	19
Tabela 3 – Prevalência de <i>Giardia</i> sp. por tipo de amostra.	30
Tabela 4 – Prevalência de <i>Giardia</i> sp. por grupo etário (amostras individuais).	30
Tabela 5 – Prevalência de <i>Giardia</i> sp. por sexo (amostras individuais).	30
Tabela 6 – Comparação das prevalências de <i>Giardia</i> sp. observadas no grupo B através dos métodos de exame direto, flutuação centrifugada com sulfato de zinco e flutuação centrifugada com solução de Sheather e respetiva carga parasitária da amostra.	31
Tabela 7 – Comparação entre a carga parasitária por <i>Giardia</i> sp. e o número de indivíduos por amostra do grupo B.	31
Tabela 8 – Caracterização das amostras do grupo A.	42
Tabela 9 – Caracterização das amostras do grupo B.	43
Tabela 10 - Comparação das prevalências de <i>Giardia</i> sp. observadas no grupo A através dos métodos de flutuação passiva com sulfato de zinco e flutuação centrifugada com solução de Sheather.	29

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Comparação das prevalências obtidas neste estudo prático com aquelas obtidas em estudos anteriores.	33
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

CVEP – Centro Veterinário de Exóticos do Porto

ELISA – *Enzyme-linked immunosorbent assay*

EUA – Estados Unidos da América

FMV-UL – Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

IC – Intervalo de confiança

PCR – *Polymerase Chain Reaction*

PO – *Per os* (por via oral)

q10d – *Quaque 10 die* (a cada 10 dias)

SID – *Semel in die* (uma vez por dia)

ZnSO₄ – Sulfato de zinco

INTRODUÇÃO

Durante largas décadas, o ideal de animal de estimação abrangia quase estritamente o cão e o gato, abrindo-se excepção para alguma ave de gaiola ou um peixe dourado, estes últimos muitas vezes considerados pouco mais que peça decorativa, e não um verdadeiro animal de companhia. Nos dias de hoje, o cenário é bem diferente; tem-se vindo a observar um número crescente de “novos animais de companhia”, designação que alberga um vasto leque de espécies, quase tão infinito quanto a nossa imaginação, entre os quais se incluem vários roedores, coelhos anões e porcos miniatura, suricatas e mofetas, répteis e anfíbios, insetos e aracnídeos.

Quer sejam estes a tendência de uma nova moda, ou o reflexo da vida agitada do homem actual, a sua presença é notória e requer uma constante adaptação de conhecimentos que se pode revelar um verdadeiro desafio para o clínico que se aventura na medicina dos novos animais de companhia. Esta é uma área muito abrangente, em que muitas espécies apresentam particularidades únicas, e a informação muitas vezes se encontra dispersa ou é simplesmente inexistente. De facto, o aumento da representatividade dos novos animais de companhia não foi acompanhado proporcionalmente por estudos e investigações sobre os mesmos, resultando num grande desconhecimento em diversas áreas, incluindo a sua influência na saúde pública.

Foi com o objetivo de proporcionar alguma coesão aos conhecimentos existentes acerca deste grupo de animais que nesta dissertação é efetuada uma revisão bibliográfica que expõe alguma informação acerca da história e natureza da chinchila e se reúnem os resultados obtidos em estudos parasitológicos anteriores que incidiram sobre esta espécie. O estudo prático levado a cabo pretende ainda enriquecer a área da parasitologia dos novos animais de companhia através da pesquisa de parasitas gastrointestinais em chinchilas, avaliação da sua prevalência e carga parasitária em associação com várias variáveis e ainda comparar a sensibilidade de diversas técnicas coprológicas na obtenção destes resultados, sendo o primeiro estudo publicado do género, de acordo com a bibliografia compulsada, realizado em território português.

I. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO ESTÁGIO CURRICULAR

Por ser esta uma área em grande expansão e de menor incidência no plano curricular, o estágio curricular foi realizado na área da clínica de novos animais de companhia, dividindo o período de atividade de estágio entre o Centro Veterinário de Exóticos, no Porto, e o Centro Veterinario Los Sauces, em Madrid, por forma a poder comparar diferentes métodos de trabalho e observar uma casuística mais diversificada.

1. ATIVIDADES NO CENTRO VETERINÁRIO DE EXÓTICOS, PORTO

As atividades realizadas no Centro Veterinário de Exóticos tiveram lugar de 7 de janeiro a 24 de março de 2013, resultando num total de cerca de 392 horas de estágio distribuídas maioritariamente (por ordem decrescente) pelas áreas de internamento, medicina interna, laboratório e cirurgia.

A maioria do tempo despendido teve lugar no internamento, onde foi prestada assistência em horário diurno e noturno; nesta área procedeu-se ao acompanhamento e monitorização de animais em estado crítico, administração de medicamentos por via entérica e parentérica, alimentação forçada a várias espécies de mamíferos, aves e répteis e foi também prestado auxílio nos cuidados básicos de higiene, através da limpeza diária das instalações. Entre as várias causas de hospitalização dos casos acompanhados, destacam-se situações de hipomotilidade gastrointestinal em roedores e lagomorfos, pneumonias e deficiências de carácter nutricional em répteis e doenças infecciosas de origem bacteriana, fúngica e viral em aves.

A atuação do estagiário na área da medicina interna contou com a realização da história pregressa e exame físico anterior à chegada do médico veterinário e posterior acompanhamento das consultas, prestando auxílio na contenção dos animais e procedimentos simples, como corte de unhas. Foram acompanhadas maioritariamente consultas de rotina, compreendendo vacinações, desparasitações e corte de unhas e/ou de penas primárias, mas também um número significativo de consultas de 1ª opinião e de seguimento, abrangendo várias classes animais, e algumas consultas externas.

Os problemas odontológicos foram uma causa comum de consulta em roedores e lagomorfos, resultando normalmente na necessidade de se efetuar uma exploração detalhada da cavidade oral sob anestesia e, muitas vezes, tratamentos dentários mais ou menos complexos. Nestas situações, o estagiário interveio na monitorização anestésica e no recobro dos pacientes. O mesmo teve lugar nas intervenções cirúrgicas acompanhadas.

Dado o particular interesse do estagiário pela parasitologia, uma parte significativa do período de estágio neste centro foi despendida a executar exames coprológicos, nomeadamente exames diretos, técnicas de flutuação e coloração Diff-Quick em amostras de mamíferos, aves e répteis (Figuras 1 e 2). Assim, foi possível aprofundar os conhecimentos nesta área e aperfeiçoar também a componente técnica, permitindo desta forma uma mais correta execução e interpretação dos resultados obtidos aquando do processamento das amostras para a realização desta dissertação.

Figura 1 – Coccídeas do género *Eimeria* detetadas em exame direto em fezes de pintassilgo (*Carduelis carduelis*) (400x de ampliação). (Fonte: original).

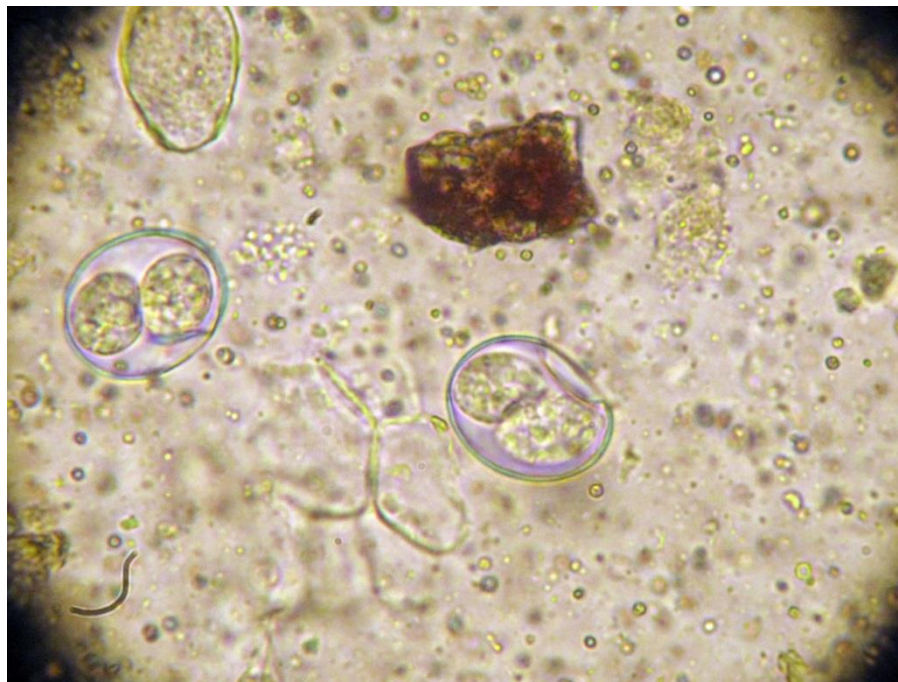


Figura 2 – Ovo de oxiurídeo nas fezes de um dragão barbudo (*Pogona vitticeps*) (400x de ampliação). (Fonte: original).

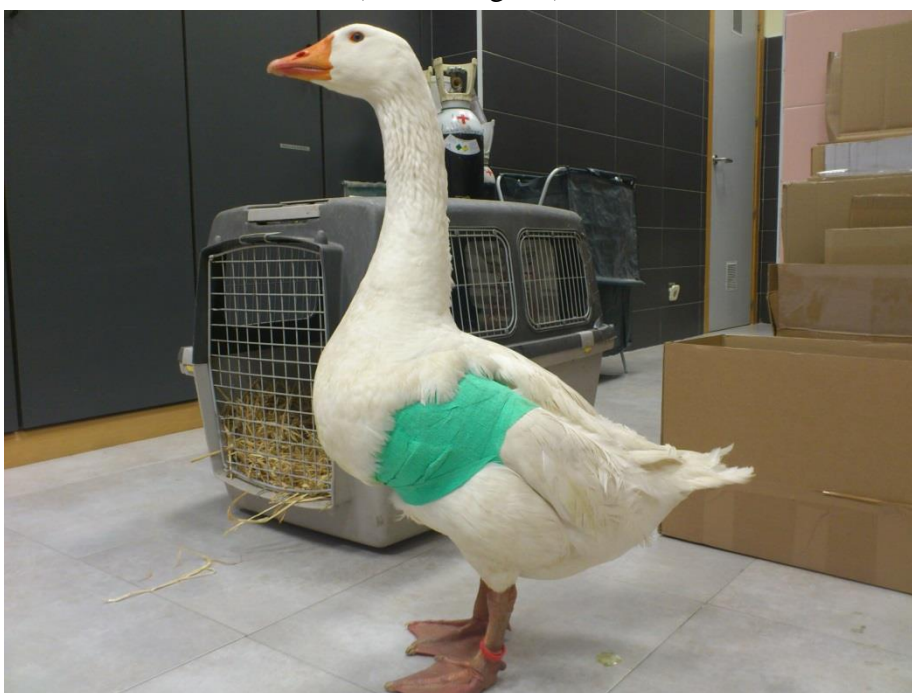


2. ATIVIDADES NO CENTRO VETERINARIO LOS SAUCES, MADRID

O período de estágio neste centro veterinário decorreu entre 1 de abril e 28 de junho de 2013, resultando num total de cerca de 639 horas repartidas entre as áreas de medicina interna, cirurgia, internamento, imagiologia e laboratório.

No âmbito da medicina interna foi possível acompanhar consultas de várias especialidades, auxiliando na contenção dos animais aquando da sua exploração e, quando necessário, realizar qualquer procedimento, como limpezas de feridas ou colocação de pensos e talas (Figura 3). Dado que a contenção de muitas espécies exóticas é efetuada com recurso a anestesia volátil (Figura 4), o estagiário foi muitas vezes responsável, sob supervisão, pela monitorização anestésica destes animais, melhorando as suas competências nesta área. Foi também possível praticar procedimentos simples em várias espécies, como corte de unhas e de penas primárias, venipunturas, cateterizações venosas e intraósseas e entubações nasogástricas.

Figura 3 – Imobilização de asa com ligadura em 8 e ao corpo em ganso doméstico (*Anser anser*).
(Fonte: original).



Neste centro foram realizadas cirurgias com uma periodicidade quase diária, na sua maioria castrações e esterilizações, eletivas ou por razões médicas, seguidas em frequência por outras cirurgias de tecidos moles (ex: remoções de neoplasias ou de corpos estranhos) e correções ortopédicas. Na sua maioria, houve a possibilidade de incorporar a equipa cirúrgica, quer como ajudante de cirurgião, anestesista ou circulante, sempre sob supervisão.

Apesar de também ter sido prestado auxílio no internamento de mamíferos, a maior parte do tempo nesta área foi despendido no internamento de aves e répteis, onde o estagiário foi

responsável pelo tratamento, higiene e alimentação dos animais residentes, pacientes com doenças crônicas e/ou tratamentos prolongados, auxiliando de resto, sempre que necessário, com outros pacientes. A manipulação diária destes animais permitiu a aquisição de bastante experiência relativamente aos métodos de contenção de psitacídeos e administração de fármacos nestas aves. Nesta área foi também possível acompanhar a progressão de casos de distintas etiologias, entre as quais traumáticas, infecciosas, oncológicas e nutricionais.

Figura 4 – Contenção por meio de anestesia volátil de um gecko tokay (*Gekko gecko*) para imobilização de uma fratura num membro posterior. (Fonte: original).



A imagiologia foi igualmente uma componente importante deste período de estágio, já que foi possível executar e interpretar diariamente exames radiográficos, consolidando conhecimentos nesta área. Neste centro, houve também a oportunidade de observar frequentemente exames endoscópicos (ex: gastroscopia, endoscopia de cavidade celômica) e ecográficos.

Também aqui houve a possibilidade de praticar as técnicas de exame coprológico, reforçando os conhecimentos adquiridos no Centro Veterinário de Exóticos. Assim, o estagiário foi responsável pela realização da maioria dos exames coprológicos efetuados durante o período de estágio, incluindo exames diretos, flutuações e colorações Gram, Diff-Quick e ácido-álcool resistentes. Por interesse pessoal, foi realizado um pequeno estudo de ocorrência de *Giardia* sp. nas chinchilas apresentadas à consulta, quer por rotina ou por doença, durante o período de estágio. Ainda no laboratório, o estagiário praticou também a realização de contagens manuais absolutas e diferenciais de leucócitos de aves e répteis e colaborou no processamento técnico de amostras sanguíneas para análise bioquímica automática.

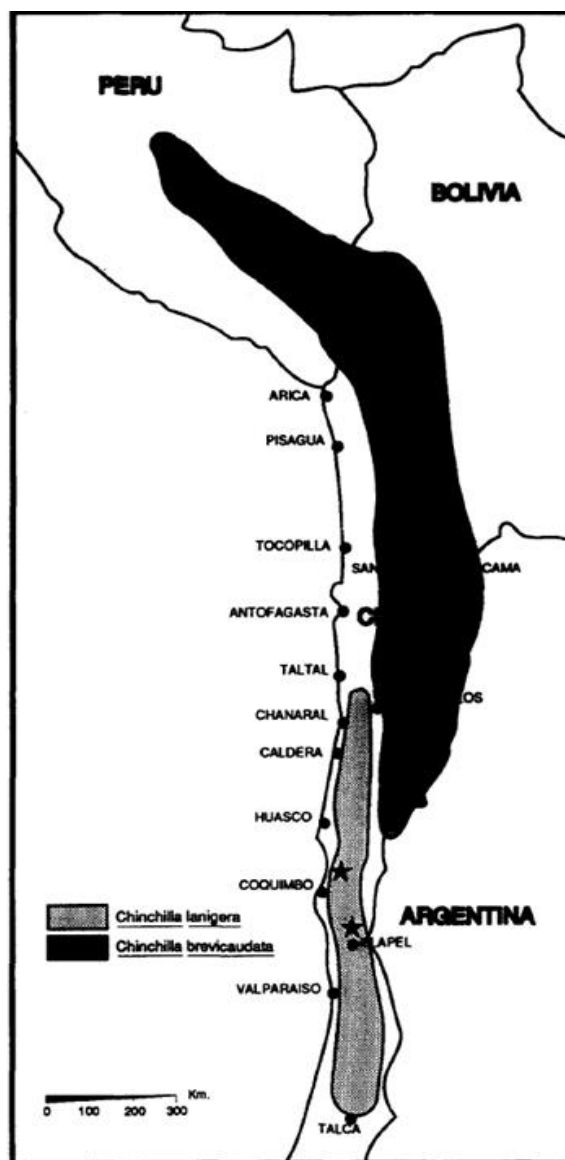
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. *Chinchilla lanigera*: DESCRIÇÃO GERAL

1.1 HISTÓRIA

As chinchilas são roedores pertencentes ao género *Chinchilla*, que engloba duas espécies, *Chinchilla lanigera* (chinchila de cauda comprida¹) e *C. chinchilla* (chinchila de cauda curta², anteriormente *C. brevicaudata*) (Jiménez, 1996). Estes animais são oriundos da América do Sul, tendo a sua distribuição geográfica abrangido no passado alguns dos países atravessados pela cordilheira dos Andes, nomeadamente o Peru, Bolívia, Chile e Argentina, onde habitavam estepes a elevada altitude (Figura 5) (Jiménez, 1996; Cortés, Miranda, & Jiménez, 2002; Johnson, 2012).

Figura 5 - Distribuição geográfica das chinchilas no passado. (Fonte: Jiménez, 1996).



¹ Tradução livre de *long-tailed chinchilla*.

² Tradução livre de *short-tailed chinchilla*.

Historicamente, as chinchilas foram um elemento importante da cultura de várias comunidades indígenas, como os Chinha (de onde deriva o seu nome), os Quéchuas e os Incas, que consumiam a sua carne e utilizavam a sua pele em vestimentas nobres (Jiménez, 1996; Gurgel, Sartori, & Araújo, 2005; Quesenberry, Donnelly, & Mans, 2012). De facto, a qualidade da sua pele tornou-se motivo de cobiça por parte dos colonizadores espanhóis, que iniciaram no século XVIII a exportação deste produto para o velho continente. Em 1828, as populações selvagens de chinchilas começam a ser exploradas comercialmente, e a intensificação da captura a partir de finais do século XIX leva a um declínio rápido de ambas as espécies (Jiménez, 1996).

Em 1910, numa tentativa de evitar a sua extinção, foi assinado um tratado entre o Peru, Chile, Argentina e Bolívia que proibia a captura e comercialização de chinchilas. Infelizmente não foram criados meios de fiscalização suficientes que suportassem esta medida, levando a uma inflação desmesurada do valor das peles destes animais (14 vezes o preço anterior ao tratado) e, consequentemente, a um maior esgotamento das restantes populações. Em 1923 deu-se início à reprodução destes animais em cativeiro para fins comerciais, que surgiu como uma alternativa à captura ilegal, sendo mantidos essencialmente exemplares de *C. lanigera* (Jiménez, 1996).

A espécie *C. chinchilla*, cujas peles atingiam um maior valor pelo seu maior tamanho corporal, foi a primeira das duas espécies a sofrer um declínio acentuado. Durante várias décadas, o último registo da sua existência no estado selvagem datou de 1953 (Jiménez, 1996), apesar de recentemente Valladares et al. (2012) referirem a captura de cinco indivíduos desta espécie no Chile em 1959. Desde então considerada extinta, a espécie *C. chinchilla* ressurgiu na última década, com cinco exemplares desta espécie capturados na região de Antofagasta, Chile (Cortés, Tirado, & Rosenmann, 2003) e, mais recentemente, foram descobertos dois novos locais onde estes animais ainda subsistem (Valladares et al., 2012). A espécie *C. lanigera* foi também considerada extinta a partir da década de 1960, mas foi redescoberta uma população selvagem no Chile em 1975 (Jiménez, 1996). Deste então têm sido envidados esforços para conservar esta espécie no seu meio natural, fomentando reservas naturais e estudos dos seus hábitos e necessidades; não obstante, os seus números continuam a diminuir e a sua sobrevivência no meio natural encontra-se ainda ameaçada (Jiménez, 1996). Alguns autores referem que a chinchila doméstica deriva de um cruzamento das duas espécies reconhecidas (Jiménez, 1996), apesar de ser normalmente mencionada na literatura como *C. lanigera*. Todas as referências constantes neste documento posteriores a este parágrafo dirão apenas respeito à chinchila doméstica, salvo menção em contrário, não obstante as possíveis similaridades alusivas aos seus congéneres selvagens.

1.2 ANATOMIA E FISIOLOGIA

As chinchilas são roedores histricomorfos (subordem Hystricomorpha) a par dos porquinhos-da-índia (*Cavia porcellus*), entre outros roedores, com os quais partilham algumas particularidades anatómicas e fisiológicas (Johnson, 2012; Quesenberry et al., 2012). Têm um corpo pequeno e esguio dissimulado por uma pelagem muito densa e suave, com até 60 pelos por folículo piloso, que lhes confere uma silhueta arredondada (Figura 6). O peso corporal varia entre 400 e 600 gramas, sendo as fêmeas tendencialmente maiores que os machos (Quesenberry et al., 2012). A temperatura corporal normal destes animais pode oscilar entre 36.1 e 37.8°C (Brown, 2000).

Figura 6 – Aspeto geral de uma chinchila doméstica. (Fonte: Hendricks, 2002).



No estado selvagem, habitam as estepes semiáridas e rochosas dos Andes localizadas entre 3 e 5 mil metros de altitude, vivendo em colónias de até algumas centenas de indivíduos (Jiménez, 1996). A esta altitude regem condições climáticas extremas, com temperaturas negativas nas noites de inverno e superiores a 40°C nas tardes de verão, sendo a temperatura média anual de 15-16°C. Como animais de hábitos noturnos e crepusculares (Jiménez, 1996; Johnson, 2012), as chinchilas toleram facilmente temperaturas baixas mas são extremamente sensíveis a temperaturas elevadas, estando sujeitas a stress térmico a partir de 26°C, sendo incapazes de sobreviver a temperaturas superiores a 32°C (Cortés, Rosenmann, & Bozinovic, 2000; Quesenberry et al., 2012).

A esperança média de vida desta espécie não está ainda bem definida. Sem bases científicas que as suportem, estão descritas longevidades de até 20 anos para as chinchilas domésticas, podendo considerar-se uma esperança média de vida entre 10 e 15 anos. A chinchila de cativeiro mais longo documentado na literatura viveu 15 anos (Quesenberry et al., 2012).

1.2.1 Sistema digestivo

A fórmula dentária das chinchilas é idêntica à dos porquinhos-da índia: 2 (I11, C00, P11, M33) = 20 (Quesenberry et al., 2012). Também à semelhança destes outros roedores, todos os seus dentes são elodontes, ou seja, de crescimento contínuo ao longo de toda a sua vida, necessitando assim de um desgaste constante.

Como seria de esperar num animal herbívoro, as chinchilas têm um longo tubo digestivo (aproximadamente 3,5 metros). A longitude do cólon é maior que a do intestino delgado e o cego, por sua vez, contendo 23% da matéria seca do intestino grosso, é proporcionalmente pequeno quando comparado com espécies como o porquinho-da-índia (44%) ou o coelho (57%) (Quesenberry et al., 2012³). O tempo de trânsito digestivo nas chinchilas é de 12-15h, similar ao que acontece com outros roedores. No entanto, ao contrário destes, o tempo de trânsito nas chinchilas parece não estar diretamente relacionado com a quantidade de fibra na dieta, mantendo-se constante mesmo quando existem baixos níveis de fibra na ingesta (Quesenberry et al., 2012⁴). Também em comum com os restantes roedores têm os hábitos coprofágicos, com a ingestão regular de cecotrofos (Johnson, 2012; Quesenberry et al., 2012).

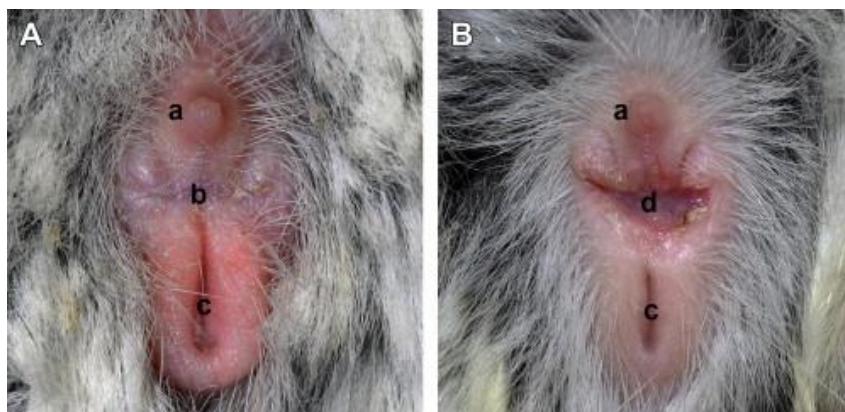
1.2.2 Aparelho reprodutor

A distinção entre sexos dentro do género *Chinchilla* é semelhante à que ocorre noutros roedores, sendo a distância anogenital sempre maior nos machos que nas fêmeas. No entanto, existem duas características que poderão originar dúvidas no momento da sexagem: as fêmeas possuem uma papila uretral, onde se abre o orifício uretral externo, e que poderá ser facilmente confundida com o prepúcio de um macho, em caso de desconhecimento; também o orifício vaginal, caudal à papila uretral, se encontra normalmente encerrado por uma membrana, sendo visível unicamente durante o estro, após o parto ou em certos casos de doença ginecológica (Figura 7) (Quesenberry et al., 2012; Mans & Donnelly, 2013). A exteriorização do pénis nos machos é o melhor método de confirmação do sexo, atendendo a que este não seja confundido com o clitóris feminino, mais pequeno e de difícil individualização do prepúcio clitoriano (Quesenberry et al., 2012). Tendo em consideração estes dois parâmetros, a sexagem das chinchilas pode ser efetuada desde o nascimento.

³ Holtenius, K. & Björnhag, G. (1985). The colonic separation mechanism in the guinea-pig (*Cavia porcellus*) and the chinchilla (*Chinchilla laniger*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 82(3), 537–542.

⁴ Huet, F., Fargeas, M.J., Fioramonti, J. & Ducos de Lahitte, J. (1998). Fecal excretion and digestive transit in the chinchilla: physiological values, effect of dietary fiber intake and changes in diet. *Revue de Medecine Veterinaire*, 149(7), 739–744.

Figura 7 – A. Genitália externa normal de um fêmea de chinchila com orifício vaginal encerrado por uma membrana (b), entre a papila uretral (a) e o ânus (c); B. Genitália externa normal de um fêmea de chinchila em estro, onde se pode observar o orifício vaginal aberto (d).
(Fonte: Mans & Donnelly, 2013).



Uma particularidade do aparelho reprodutor masculino é o grande desenvolvimento das suas glândulas vesicais, o que lhes permite a oclusão do canal vaginal com um tampão de muco após a cópula; também não possuem escroto como tal, mas sim um par de pequenos sacos pós-anais destinados a comportar apenas o epidídimo, podendo os testículos encontrar-se no abdómen ou dentro do canal inguinal (Quesenberry et al., 2012).

As chinchilas são poliéstricas sazonais com a sua época reprodutiva no hemisfério norte definida entre novembro e maio. O ciclo éstrico tem uma duração de 28-35 dias e a puberdade nas fêmeas é atingida aos 4-5 meses de idade, apesar de só se consideraram sexualmente maduras aos 8-9 meses (Bekyürek, Liman, & Bayram, 2002; Quesenberry et al., 2012); a puberdade nos machos tem início a partir dos 8 meses (Quesenberry et al., 2012).

O período de estro dura 3-4 dias, durante o qual a fêmea estará recetiva apenas a machos pelos quais demonstre afeição; caso contrário, a fêmea pode mostrar-se agressiva e podem originar-se conflitos que resultem na morte do macho (Bekyürek et al., 2002). Após uma cópula efetiva, a gestação prolonga-se por 111 dias (Bekyürek et al., 2002; Quesenberry et al., 2012), um período surpreendentemente longo, quando comparado com outras espécies de roedores. O parto tem normalmente lugar nas primeiras horas da manhã, resultando normalmente em uma ou duas crias (Quesenberry et al., 2012).

As crias de chinchila são precoces, nascendo com os olhos abertos e dentição e pelagem completas. Começam a ingerir alimentos sólidos a partir da primeira semana de vida, mas continuam a utilizar o leite materno até às 6-8 semanas (Johnson, 2012; Quesenberry et al., 2012).

1.3 NUTRIÇÃO

Originárias de um ambiente provido de tão poucos recursos, as chinchilas em estado selvagem alimentam-se da pouca vegetação existente. Num estudo de campo com dois anos de duração, Cortés et al. (2002) concluíram que a sua dieta engloba folhagem de arbustos, mas também as suas partes mais lenhificadas (fonte direta de fibra), plantas herbáceas, uma pequena porção de plantas suculentas e raras vezes sementes, em proporções mais ou menos variáveis consoante a disponibilidade do alimento. Apesar de consideradas por alguns autores como herbívoros estritos (Johnson, 2012), as chinchilas podem também oportunisticamente ingerir ovos de aves e alguns insetos (Hendricks, 2002).

Com base na sua dieta natural, recomenda-se que as chinchilas em cativeiro tenham uma alimentação rica em fibra, apesar de se desconhecerem as necessidades nutricionais específicas da espécie (Quesenberry et al., 2012); assim sendo, a base da sua alimentação deve ser o feno de boa qualidade. No que toca à ração comercial (*pellets*) consideram-se aceitáveis formulações que contenham 16-20% de proteína, 2-5% de gordura e 15-35% de fibra (Quesenberry et al., 2012). Esta deve ser encarada como um suplemento alimentar e não como alimento-base, não devendo a quantidade diária exceder 1-2 colheres de sopa por animal adulto; por analogia com outras espécies, supõe-se que as fêmeas em gestação, assim como os animais em crescimento, necessitem de um maior aporte energético, assim como uma maior percentagem de proteína, gordura e cálcio (Quesenberry et al., 2012), pelo que nestas situações se deverá fornecer um feno de leguminosas (por exemplo, feno de alfalfa), com maior percentagem de proteína e cálcio, e aumentar a quantidade de ração disponível.

1.4 ETOLOGIA

As chinchilas são animais geralmente dóceis, apesar de nervosos. Se amedrontados, a sua tendência natural é a fuga e geralmente não demonstram agressividade, mas podem morder se impedidas de escapar. Um dos seus mecanismos de defesa consiste em soltar grandes mechas de pelo quando agarradas repentina ou incorretamente; quando assustadas, podem também erguer-se nos membros posteriores e emitir jatos de urina. Habitua-se com facilidade à interação com os humanos, especialmente se manuseadas desde tenra idade (Quesenberry et al., 2012). Apesar de naturalmente ativas durante a noite, podem adaptar-se aos horários diurnos dos seus proprietários (Johnson, 2012; Quesenberry et al., 2012).

Um comportamento típico desta espécie no estado selvagem são os banhos de areia, que praticam diariamente como forma de manter o pelo limpo e saudável, livre de sujidade e oleosidade (Quesenberry et al., 2012). Este comportamento deve ser mantido em cativeiro, fornecendo diariamente um recipiente com areia comercializada para este fim.

2. PARASITAS GASTROINTESTINAIS DAS CHINCHILAS

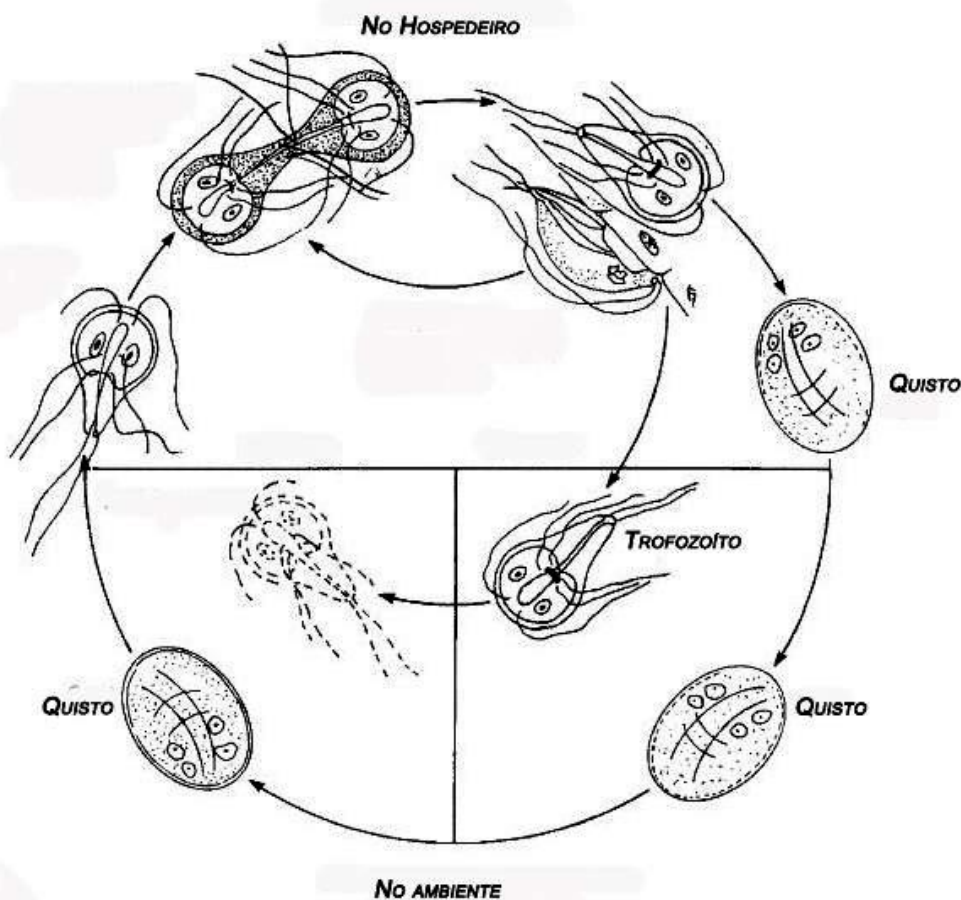
2.1 *Giardia* spp.

2.1.1 Biologia e epidemiologia

Os parasitas pertencentes ao género *Giardia* são protozoários unicelulares flagelados que colonizam as criptas do intestino delgado dos hospedeiros, de forma clínica ou assintomática, sendo a diarreia o sintoma mais frequente de giardiose (Sulaiman & Cama, 2006).

O ciclo de vida de *Giardia* sp. é direto e gira em torno de duas formas parasitárias, o trofozoíto (forma vegetativa) e o quisto (forma infetante e de resistência no ambiente). A ingestão de quistos viáveis presentes na água, alimentos ou objetos contaminados por parte de um hospedeiro suscetível determina a infeção (Sulaiman & Cama, 2006; Feng & Xiao, 2011). No intestino delgado do hospedeiro dá-se o desenquistamento, resultando na formação de trofozoítos que aderem e infetam as células intestinais, multiplicando-se presumivelmente de forma assexuada; a chegada dos trofozoítos à porção distal do intestino resulta na formação de novos quistos que, expulsos nas fezes, darão continuidade ao ciclo parasitário (Figura 8) (Sulaiman & Cama, 2006; Feng & Xiao, 2011).

Figura 8 – Ciclo de vida de *Giardia* spp. (Fonte: Fernandes, 2012).



Os quistos de *Giardia* spp. são ovais e as suas dimensões variam com a espécie em questão, possuindo os quistos de *Giardia duodenalis*⁵ 8-12µm de comprimento e 7-10µm de largura (Sulaiman & Cama, 2006). A sua excreção ocorre em quantidades variáveis e de forma intermitente, sendo os quistos infetantes desde o momento da sua excreção e permanecendo viáveis até 7 dias no solo e 28 dias em águas paradas a temperaturas entre 17 e 25°C, aumentando o tempo de sobrevivência a temperaturas mais baixas (Sulaiman & Cama, 2006; Feng & Xiao, 2011).

Os protozoários do género *Giardia* são organismos cosmopolitas e passíveis de infetar virtualmente qualquer vertebrado, incluindo o homem, mamíferos domésticos e selvagens, aves, répteis e possivelmente também peixes (Sulaiman & Cama, 2006; Feng & Xiao, 2011). Em humanos, a giardiose atinge particularmente crianças, mas também adultos, estimando-se a ocorrência de 2 milhões de casos anuais nos EUA, sendo maior a incidência em países em desenvolvimento e comunidades desfavorecidas (Feng & Xiao, 2011). A transmissão entre humanos deve-se principalmente a toxinfecções alimentares e à contaminação de reservas de água, originando-se assim surtos de infeção que atingem um grande número de indivíduos simultaneamente e que manifestam a importância deste parasita na saúde pública (Sulaiman & Cama, 2006; Feng & Xiao, 2011). A potencial transmissão zoonótica é vista com alguma apreensão e alguns estudos levam a crer que a transmissão interespecífica de *Giardia* sp. é possível mas rara, pelo que é crescente o número de investigações com o objetivo de aclarar o risco desta ocorrência e que espécies animais poderão ser direta ou indiretamente incriminadas (Feng & Xiao, 2011).

2.1.2 Taxonomia e potencial zoonótico

A taxonomia deste género está em constante discussão e remodelação, à medida que as técnicas de genotipificação aplicadas permitem uma melhor compreensão das várias espécies e diferentes genótipos (*assemblages*) existentes, assim como aumenta a informação disponível sobre os seus hospedeiros e potencial zoonótico.

Sulaiman e Cama (2006) mencionam que historicamente se podem encontrar referências a 41 espécies distintas, mas até à data apenas são reconhecidas pela comunidade científica 6 espécies dentro do género *Giardia*: *Giardia duodenalis* infetando uma grande diversidade de mamíferos, incluindo humanos e outros primatas, assim como vários animais domésticos, *G. ardea* e *G. psittaci* infetando aves, *G. muris* e *G. microti* em roedores e *G. agilis* em anfíbios (Tabela 1) (Sulaiman & Cama, 2006; Feng & Xiao, 2011).

⁵ Sinonímia: *Giardia lamblia* e *G. intestinalis*.

Tabela 1 – Espécies e *assemblages* do género *Giardia* e seus principais hospedeiros.
(Adaptado de Feng e Xiao, 2011).

Espécie / Assemblages	Hospedeiros principais
<i>G. duodenalis</i>	
Assemblage A	Humanos e outros primatas, ruminantes domésticos e selvagens, alpacas, suínos, equinos, canídeos domésticos e selvagens, gatos, furões e outros mamíferos.
Assemblage B	Humanos e outros primatas, bovinos, cães, equinos, coelhos e roedores
Assemblages C e D	Canídeos domésticos e selvagens
Assemblage E	Bovinos e outros ungulados domésticos
Assemblage F	Gatos
Assemblage G	Ratos e ratazanas
Assemblage H	Focas
<i>G. agilis</i>	Anfíbios
<i>G. ardeae</i>	Aves
<i>G. psittaci</i>	Aves
<i>G. microti</i>	Roedores
<i>G. muris</i>	Roedores

A *G. duodenalis* engloba diversas *assemblages* categorizadas de A a H, considerando-se as *assemblages* A e B potencialmente zoonóticas, sendo frequentemente identificadas tanto no homem como em várias outras espécies animais, e as *assemblages* C a H mais específicas a diferentes grupos de hospedeiros não humanos (Tabela 1) (Sulaiman & Cama, 2006; Feng & Xiao, 2011). No entanto, a identificação inesperada e recorrente das *assemblages* C, D, E e F em amostras humanas revela a importância do aprofundamento da caracterização molecular deste parasita, a fim de esclarecer as potencialidades zoonóticas destes genótipos que até ao momento eram considerados inócuos para o ser humano (Feng & Xiao, 2011).

O conhecimento dos genótipos passíveis de afetar animais domésticos é de particular interesse, já que o seu nível de proximidade com o homem pode potenciar a transmissão zoonótica desta doença. Ambas as *assemblages* A e B foram já identificadas em cães e gatos (Feng & Xiao, 2011), no entanto são poucos os estudos que contemplem os novos animais de companhia no âmbito deste tipo de investigações. De acordo com alguns dados publicados do conhecimento da autora, neste grupo de animais foi já identificada a *assemblage* A num furão (Abe, Tanoue, Noguchi, Ohta, & Sakai, 2010) e num porquinho-da-índia (Sulaiman & Cama, 2006) e a *assemblage* B num coelho e num porquinho-da-índia (Lebbad et al., 2010).

2.1.3 Infecção por *Giardia* spp. em chinchilas

A presença de quistos de *Giardia* spp. em pequeno número nas fezes de chinchila é considerada normal por vários autores (Ward, 2009; Lucena et al., 2012; Johnson, 2012; Quesenberry et al., 2012), apesar da infecção em animais selvagens ser aparentemente rara (Fialho et al., 2008; Quesenberry et al., 2012; Mans & Donnelly, 2013). Fatores como stress, imunossupressão e mau manejo podem levar a um aumento da carga parasitária (e consequentemente um aumento da excreção de quistos), eventualmente desencadeando um episódio de giardiose (Gurgel et al., 2005; Quesenberry et al., 2012; Ward, 2009). Mais especificamente, os animais que participam em concursos/exposições e também os animais mais jovens (e particularmente em situação de pós-desmame) parecem particularmente predispostos a desenvolver a doença (Leveck et al., 2011).

Diarreia intermitente, perda de apetite, declínio progressivo da condição corporal e mau aspeto geral são sinais descritos em casos de giardiose em chinchilas, sendo esta uma afeção potencialmente fatal (Griffiths, 1971; Ward, 2009; Johnson, 2012; Quesenberry et al., 2012). No entanto, existe ainda alguma controvérsia quanto ao facto de o género *Giardia* ser ou não, nesta espécie, uma entidade patológica, considerando alguns autores que o aumento do número de quistos observado nas fezes de indivíduos com diarreia pode ser apenas secundário à disbiose intestinal subsequente a outra entidade patológica, e não a causa primária do distúrbio (Quesenberry et al., 2012; Mans & Donnelly, 2013).

2.1.3.1 Prevalência e potencial zoonótico

Nos últimos anos foram elaborados vários estudos com o intuito de definir a prevalência da infecção por *Giardia* spp. em chinchilas e também descrever as espécies e *assemblages* presentes nestes animais.

Relativamente à taxa de infecção em chinchilas, Gurgel et al. (2005) referiram uma prevalência de 8,0% de *Giardia* sp., através de microscopia ótica, num estudo envolvendo 250 chinchilas mantidas em cativeiro no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. No entanto, as amostras utilizadas neste estudo foram mantidas a temperaturas de -8°C antes do seu processamento, o que poderá ter mascarado uma prevalência significativamente maior devido à destruição dos quistos no processo de congelação (Tangtrongsup & Scorza, 2010). Dois outros estudos mais recentes mencionam prevalências de 36,4% (Fialho et al., 2008) e 37,5% (Lv, Wang, Qi, & Zhang, 2009), no Brasil e na China, respetivamente.

A primeira caracterização genética de *G. duodenalis* em chinchilas data de 1998, em que foi identificada a *assemblage* A na única amostra de chinchila presente num estudo alemão (Karanis & Ey, 1998). Num outro estudo, este realizado no Brasil, foi identificada exclusivamente a *assemblage* B em 3 amostras de chinchila (Soares et al., 2011).

Mais recentemente, Levecke et al. (2011) declararam como 66,3% a prevalência individual de *Giardia* spp. em 80 chinchilas na Bélgica, através da identificação de quistos por microscopia ótica. Recorrendo a técnicas de caracterização molecular em 22 das amostras positivas, foi identificada a presença de *Giardia duodenalis* em 21 amostras (95,5%), reconhecendo-se as *assemblages* A (em 52,4% das amostras), B (85,7%), C (71,4%) e E (9,5%); a maioria das infecções era mista (pelo menos duas *assemblages* distintas), sendo que em todas elas foi identificada pelo menos uma das *assemblages* A e B, revelando a especial importância desta espécie como potencial reservatório zoonótico. Considerou-se inesperada a identificação das *assemblages* C e E, apesar de alguns dos animais presentes neste estudo poderem ter tido contacto direto ou indireto com cães e gado doméstico, espécies as quais podem albergar os genótipos C e E, respetivamente (Levecke et al., 2011).

Já em Itália, foi efetuado um estudo que incidia sobre três criadores de chinchilas para fins comerciais onde se identificou a presença de *Giardia* spp. em 41 de 104 amostras (39,4%) por imunofluorescência direta, sendo que, após caracterização molecular, em 31 destas amostras foi identificada *G. duodenalis*, e dentro deste grupo foram identificadas as *assemblages* B (93,5%) e C (6,5%) (Veronesi et al., 2012).

Os resultados obtidos nos estudos referidos revelam não só a prevalência relativamente elevada de infeção por *Giardia* spp. em chinchilas, mas também a presença frequente nesta espécie de genótipos potencialmente zoonóticos de *G. duodenalis*, entre outros. Não obstante, todos os estudos citados referem a necessidade de investigações complementares que avaliem criteriosamente a viabilidade de transmissão interespecífica, por forma a determinar com mais rigor o potencial das chinchilas na transmissão zoonótica desta doença.

2.1.3.2 Diagnóstico

A deteção deste parasita em chinchilas pode ser realizado quer por exame direto de fezes, onde podem ser observados quistos e/ou trofozoítos, ou através de exames de flutuação, em que o sulfato de zinco é a solução de flutuação normalmente aconselhada para a concentração e identificação de quistos de giardia (Dryden, Payne, & Smith, 2006; Quesenberry et al., 2012; Mans & Donnelly, 2013). Outras técnicas podem eventualmente ser utilizadas, como PCR ou ELISA, mas a presença de quistos em chinchilas saudáveis torna duvidoso o significado clínico da positividade a estes testes. Desta forma, é recomendável proceder sempre à quantificação dos quistos quando se pretende estabelecer ou excluir um diagnóstico de giardiose (Quesenberry et al., 2012). Qualquer que seja a técnica utilizada é recomendável a utilização de amostras de fezes obtidas em três dias consecutivos, já que de outra forma um diagnóstico negativo poderá ser inconclusivo devido à excreção intermitente dos quistos (Sulaiman & Cama, 2006).

2.1.3.3 Tratamento e profilaxia

Apesar de a infecção ser normalmente autolimitante em animais saudáveis, a resolução dos sinais clínicos e a diminuição da excreção de quistos podem ser conseguidas através da administração de metronidazol, tinidazol ou febendazol (Mans & Donnelly, 2013), apesar de não se saber se estes tratamentos erradicam completamente o parasita ou só diminuem a sua excreção (Quesenberry et al., 2012). É também recomendável a desinfecção do ambiente e exclusão de todos os elementos de madeira dos seus alojamentos, já que estes não poderão ser eficientemente desinfetados e poderão constituir um foco de reinfeção (Mans & Donnelly, 2013).

2.2 *Cryptosporidium* spp.

2.2.1 Biologia e epidemiologia

O género *Cryptosporidium* engloba protozoários eucariotas pertencentes ao Filo Apicomplexa e compreende várias espécies, todas elas parasitas intracelulares obrigatórios. Estes parasitas são responsáveis pela ocorrência de gastroenterites em várias espécies animais, incluindo o homem, afetando particularmente crianças e indivíduos imunodeprimidos (Fayer, Morgan, & Upton, 2000).

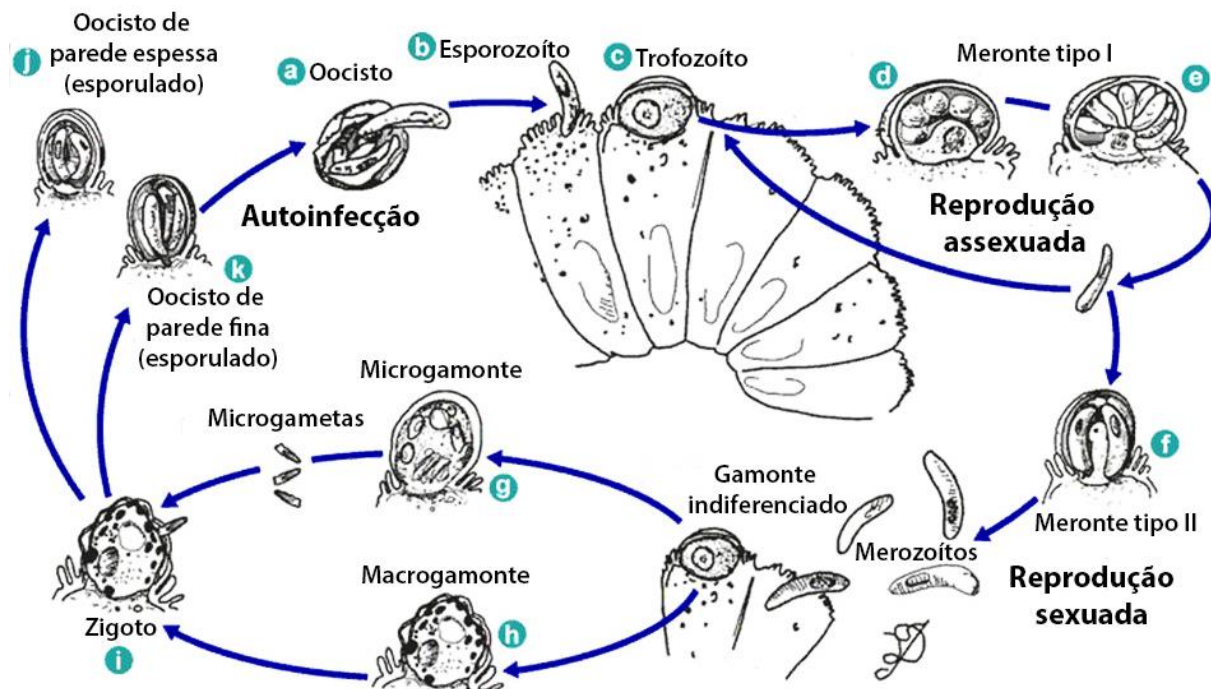
O seu ciclo de vida é direto e inicia-se com a ingestão ou inalação de oocistos viáveis, seguindo-se a libertação dos quatro esporozoítos contidos em cada oocisto e consequente colonização intracelular de células epiteliais, ocorrendo normalmente a infecção do epitélio do tubo digestivo, cuja localização exata depende da espécie de *Cryptosporidium* em questão, respetivo hospedeiro e porta de entrada do parasita, podendo também ocorrer infecção extraintestinal, afetando outros órgãos tais como o pulmão, fígado, cloaca ou bolsa de Fabricius (Fayer et al., 2000; O'Hara & Chen, 2011).

O ciclo biológico deste parasita inclui dois tipos de reprodução: reprodução assexuada, correspondendo à multiplicação dos esporozoítos por esquizogonia e consequente invasão de novas células epiteliais, e sexuada, levando à formação de micro e macrogamontes (gametogonia), que culmina na produção de novos oocistos, alguns responsáveis pela reinfeção do hospedeiro (oocistos de parede fina) e outros expulsos nas fezes após esporulação (oocistos de parede espessa) (Figura 9) (O'Hara & Chen, 2011).

Os oocistos são muito pequenos, variando entre 4,4 a 6,0µm de comprimento por 4,2 a 5,4µm de largura dependendo da espécie (Xiao & Fayer, 2008), e são bastante resistentes, mantendo-se viáveis no ambiente por 6 meses a 20°C e 3 meses a temperaturas de até 30°C, sendo destruídos em poucos segundos a temperaturas superiores a 72°C (Fayer et al., 2000). A

transmissão indireta através de alimentos (em particular frutas e vegetais) e fontes de água contaminadas é exacerbada pela resistência deste parasita à temperatura ambiente e aos desinfetantes à base de cloro utilizados convencionalmente no tratamento das águas públicas (Fayer et al., 2000; Widmer & Sullivan, 2012). A sua transmissão pode também suceder por contacto direto entre humanos, entre animais ou pela interação animal-homem; é possível que a infeção também ocorra por via aerógena (Fayer et al., 2000).

Figura 9 – Ciclo de vida de *Cryptosporidium* spp.
(Adaptado de Centers for Disease Control and Prevention, 2010).



2.2.2 Taxonomia e potencial zoonótico

O género *Cryptosporidium* foi descrito e designado pela primeira vez no início do século XX por Ernest Tyzzer, que descreveu também as duas primeiras espécies identificadas no murganho (*Mus musculus*), *Cryptosporidium muris*, localizado nas glândulas gástricas, e *C. parvum*, no intestino delgado do mesmo animal (Fayer, 2010; Ren et al., 2012). Várias outras espécies foram descritas ao longo de décadas, sendo efetuada a diferenciação e estabelecida a nomenclatura com base no hospedeiro, localização do parasita e tamanho do oocisto. No entanto, a falta de características morfológicas complexas facilmente observáveis limitava a distinção dentro do género (Fayer, 2010), e poucas espécies foram consideradas válidas. Com base no seu tamanho, os oocistos provenientes de um grande número de espécies animais (incluindo o homem) eram identificados como *C. parvum* ou similares a este, existindo referências de mais de 150 hospedeiros na classe dos Mamíferos para esta espécie de *Cryptosporidium* (Ren et al., 2012).

O advento da tecnologia molecular permitiu o início da caracterização genotípica dos oocistos de diferentes hospedeiros e consequente identificação de vários genótipos (Fayer, 2010; Ren et al., 2012). Foram inicialmente reconhecidos dois importantes genótipos de *C. parvum*, o primeiro transmitido maioritariamente entre humanos e o segundo identificado com frequência tanto no homem como noutros animais, sendo considerado o principal agente zoonótico, hoje definidos como *C. hominis* e *C. parvum* no senso estrito, respetivamente (Fayer, 2010; Ren et al., 2012).

Com o aperfeiçoar das técnicas, novos genótipos foram identificados e novas espécies puderam ser validadas com base nessa informação genética, nomeadamente *Cryptosporidium serpentis*, *C. varanii* e *C. fragile* infectando répteis e anfíbios, *C. meleagridis*, *C. baileyi* e *C. galli* em aves e *C. muris*, *C. parvum*, *C. wrairi*, *C. felis*, *C. andersoni*, *C. canis*, *C. hominis*, *C. suis*, *C. bovis*, *C. fayeri*, *C. ryanae* e *C. macropodum* em mamíferos (Tabela 2); apesar de terem sido encontrados parasitas similares ao género *Cryptosporidium* em peixes, existe ainda alguma controvérsia no que toca à validação de espécies infectantes deste Filo. Não obstante, a taxonomia do género *Cryptosporidium* está em constante mudança, com a contínua descoberta de novos genótipos, frequente atualização da informação molecular disponível e consequente validação de novas espécies e revogação de nomenclaturas ultrapassadas.

Tabela 2 – Espécies do género *Cryptosporidium* aceites pela comunidade científica, seus hospedeiros e principal local de invasão epitelial.

(Adaptado de Xiao, Fayer, Ryan, & Upton, 2004 e Fayer, 2010).

Espécies	Hospedeiros	Localização principal
<i>C. serpentis</i>	Ofídios e sáurios	Estômago
<i>C. varanii</i> (= <i>C. saurophilum</i>)	Sáurios e ofídios	Intestino
<i>C. fragile</i>	Anfíbios	Estômago
<i>C. meleagridis</i>	Perus e outras aves, humanos, outros mamíferos	Intestino
<i>C. baileyi</i>	Galinhas e outras aves	Intestino
<i>C. galli</i> (= <i>C. blagburni</i>)	Galinhas e outras aves	Proventrículo
<i>C. muris</i>	Roedores, humanos e outros mamíferos	Estômago
<i>C. parvum</i>	Artiodáctilos, humanos, cães e outros mamíferos	Intestino
<i>C. wrairi</i>	Porquinhos-da-Índia	Intestino
<i>C. felis</i>	Gatos, humanos, bovinos	Intestino
<i>C. andersoni</i>	Bovinos, humanos	Estômago (abomaso)
<i>C. canis</i>	Canídeos e humanos	Intestino
<i>C. hominis</i>	Humanos, artiodáctilos domésticos, dugongo	Intestino
<i>C. suis</i>	Suínos, humanos, bovinos	Intestino
<i>C. bovis</i>	Vitelos, borregos	Desconhecido
<i>C. fayeri</i>	Marsupiais, ovelhas	Desconhecido
<i>C. ryanae</i>	Vitelos	Desconhecido
<i>C. macropodum</i>	Cangurus cinzentos (<i>Macropus giganteus</i> e <i>M. rufus</i>), wallaby (<i>Wallabia bicolor</i>)	Desconhecido

A maioria dos casos descritos de criptosporidiose em humanos envolve uma de duas espécies, *C. hominis* ou *C. parvum* (Xiao et al., 2004), sendo que *C. meleagridis* é a terceira espécie de maior relevância (Fayer, 2010), seguida de *C. canis* e *C. felis* e, menos frequentemente, *C. muris*, *C. ryanae* e *C. suis* (Xiao et al., 2004; Fayer, 2010). Todas estas espécies foram já identificadas em indivíduos imunocompetentes, o que parece indicar que, apesar da maior suscetibilidade por parte de sujeitos imunodeprimidos, este não é um pré-requisito para a infecção por nenhuma destas espécies.

Parece haver uma óbvia correlação entre as espécies com conhecido potencial zoonótico e o grau de proximidade dos seus principais hospedeiros com o homem, não havendo registo de infecções por genótipos adaptados especificamente a répteis ou outros animais selvagens (Xiao et al., 2004). Todavia, o desconhecimento não garante a inocuidade e a distância não é sinónimo de segurança, pelo que a existência de outras espécies e/ou genótipos com potencial zoonótico ainda ocultas pelo manto da ignorância é uma possibilidade premente.

2.2.3 Infecção por *Cryptosporidium* spp. em chinchilas

A presença de *Cryptosporidium* está descrita em chinchilas (Yamini & Raju, 1986; Morrissey, 1996; Alves, Silva, & Monteiro, 2008; Johnson, 2012), apesar de serem ainda pouco frequentes estudos de prevalência e não existirem, no conhecimento da autora, estudos de caracterização molecular nesta espécie, desconhecendo-se que genótipos infetam de facto as chinchilas.

Em paralelismo com o que sucede em outros animais, os sinais clínicos associados à criptosporidiose incluem enterite com atrofia das vilosidades intestinais, perda de peso, mau estado geral e morte (Morrissey, 1996). Ao documentar um caso de criptosporidiose que resultou na morte de uma chinchila jovem, Yamini e Raju (1986) descreveram ainda a distensão do estômago, intestino delgado e cólon por gás e a presença de fluido amarelado no seu interior, com a presença de *Cryptosporidium* em maior quantidade no epitélio do intestino delgado, mas também no estômago e cólon.

2.2.3.1 Prevalência e potencial zoonótico

No que se refere à prevalência nesta espécie, Alves et al. (2008) descreveram a ocorrência de *Cryptosporidium* sp. em infecção concomitante com *Giardia* sp. em 6 de 60 amostras (10%) recolhidas numa exploração comercial de chinchilas e processadas através de flutuação centrifugada com sulfato de zinco; estes dados contrapõem-se com os resultados obtidos nos estudos de Gurgel (2005) e Lv et al. (2009), em que não foi detetada a presença deste parasita em nenhuma das amostras submetidas a coloração Ziehl-Neelsen modificada.

Apesar da aparentemente baixa taxa de infecção, a ausência de informação que comporte as espécies e/ou genótipos de *Cryptosporidium* passíveis de infectar as chinchilas gera um profundo desconhecimento sobre o potencial desta espécie como reservatório zoonótico que requer subsequente investigação.

2.2.3.2 Diagnóstico

São vários os métodos utilizados na detecção de *Cryptosporidium* presente em amostras de fezes, variando em termos de sensibilidade e especificidade, custo das técnicas e nível de experiência do utilizador requerido para uma correta interpretação dos resultados (Fayer et al., 2000). As técnicas menos dispendiosas, e provavelmente as mais utilizadas, incluem distintas colorações de esfregaços fecais, que permitem destacar os pequenos oocistos da restante matéria fecal, e técnicas de flutuação, com o objetivo de concentrar a quantidade de oocistos presentes numa determinada amostra e assim facilitar a sua visualização e identificação.

Entre as colorações empregues incluem-se maioritariamente técnicas álcool-ácido resistentes como Ziehl-Neelsen, Kinyoun e modificações destas, que alguns autores consideram ser o *gold standard* na identificação deste parasita (Garcia, Bruckner, Brewer, & Shimizu, 1983). No entanto, estas colorações diferenciais são normalmente demoradas e a sensibilidade e especificidade são variáveis conforme a técnica (Garcia et al., 1983), podendo ocorrer a tinação de outras estruturas que não oocistos, como leveduras, por exemplo, que podem gerar falsos-positivos, pelo que é necessária experiência por parte do microscopista relativamente à técnica utilizada (Fayer et al., 2000).

As técnicas de flutuação, ainda que não promovam uma distinção óbvia entre os oocistos e as restantes estruturas presentes no campo de visualização, ao permitirem a concentração dos oocistos existentes numa maior quantidade de amostra tornam mais óbvia a presença do mesmo; não obstante, a identificação de oocistos de *Cryptosporidium* spp. a fresco (não corados) exige também experiência por parte do observador, evitando assim a confusão com leveduras e outras estruturas flutuantes. A flutuação centrifugada com solução de Sheather é uma das técnicas recomendadas para a identificação deste parasita e está descrito que este meio de flutuação torna os oocistos mais refringentes e de uma tonalidade rosada, o que permite que se destaquem ligeiramente das restantes estruturas (Moodley, Jackson, Gathiram, & van den Ende, 1991). Moodley et al. (1991) consideraram que estas características, associadas à forma e tamanho dos oocistos (4-6µm) e à presença de um ou dois grânulos residuais neles contidos, tornam mais fácil a identificação do parasita através desta técnica em comparação com outras testadas.

As técnicas de ELISA e imunofluorescência com anticorpos mono ou policlonais lideram as possibilidades de diagnóstico imunomediado. No entanto, para além de mais dispendiosas, a

pouca especificidade dos anticorpos utilizados nestas técnicas leva à frequente ocorrência de falsos-positivos e consequentemente erros de diagnóstico (Fayer et al., 2000).

Por último, as técnicas moleculares de PCR têm ganho relevância nas últimas décadas, permitindo não só a detecção do parasita mas também a identificação da espécie/genótipo em causa, de particular importância em estudos epidemiológicos. As suas limitações em termos clínicos incluem o custo elevado e a possibilidade de falsos-positivos por detecção de ácidos nucleicos isolados, organismos não viáveis e contaminação laboratorial (Fayer et al., 2000).

2.2.3.3 Tratamento

Em indivíduos imunocompetentes a criptosporidiose é normalmente autolimitante, podendo a infeção ser inclusivamente assintomática (Morrisey, 1996), atingindo com principal relevância animais imunodeprimidos, à semelhança do que ocorre nos seres humanos. Não existe nenhum tratamento específico eficaz para a criptosporidiose.

2.3 *Rodentolepis nana* (= *Hymenolepis nana*)

2.3.1 Biologia

O parasita *Rodentolepis nana* (também conhecido como *Hymenolepis nana*) é um céstodo da família Hymenolepididae e cujos principais hospedeiros são roedores de várias espécies (Baker, 2007).

Devido às suas pequenas dimensões, a literatura anglo-saxónica denomina este parasita ténia anã⁶, possuindo normalmente 25 a 40mm de comprimento e 1mm de largura. O tamanho deste parasita depende, no entanto, do hospedeiro que ocupa e respetivo sistema imunitário e também da temperatura do ambiente em que este se encontra (Baker, 2007), estando descritos indivíduos com 150mm de comprimento (Gruber, Johnson, Kinsella, Greiner, & Gordon, 2001). O escólex possui quatro ventosas desarmadas e o rostelo sustém uma fila única de 20 a 27 pequenos ganchos. Os ovos são de formato oval, com 44 a 62µ por 30 a 55µ de tamanho, contendo um embrióforo de parede fina e embrião hexacanto apresentando seis pares de ganchos (Figura 10) (Baker, 2007).

⁶ Tradução livre de *dwarf tapeworm*.

Figura 10 – Ovo de *Rodentolepis nana* em exame fecal direto.
(Fonte: Centers for Disease Control and Prevention, 2009).



O ciclo de vida deste parasita, apesar de se assemelhar ao de outros céstodos, tem determinadas particularidades, nomeadamente a possibilidade de completar-se sem a necessidade de hospedeiros intermediários e a ocorrência de autoinfecção (Baker, 2007; Quesenberry et al., 2012). Assim, existem três possíveis vias de infecção: após a libertação dos ovos pelas proglótides grávidas no interior do hospedeiro definitivo, pode ocorrer (1) autoinfecção do hospedeiro, sem que os ovos sejam excretados para o ambiente, ou pode dar-se a excreção dos ovos nas fezes, com ulterior (2) infecção direta de novos hospedeiros definitivos por via fecal-oral ou (3) infecção indireta através da ingestão de hospedeiros intermediários infetados.

Em caso de infecção direta ou autoinfecção, os ovos eclodem no intestino delgado do hospedeiro definitivo e os embriões penetram as vilosidades intestinais, transformando-se em larvas cisticercóides no interior da mucosa. Regressam então ao lúmen intestinal, onde se fixam e se desenvolvem em formas adultas. De forma análoga, a larva cisticercóide desenvolve-se no interior do hospedeiro intermediário, não existindo invasão da mucosa do hospedeiro definitivo quando ocorre infecção indireta (Baker, 2007).

2.3.2 Hospedeiros e potencial zoonótico

Os roedores são os principais hospedeiros definitivos deste parasita, incluindo ratos, hamsters, ratazanas, gerbos e cães da pradaria (Duclos & Richardson, 2000; Baker, 2007), verificando-se que a infecção cruzada entre roedores de distintas espécies é possível mas não é universal (Baker, 2007). Vários primatas, incluindo o homem, são também suscetíveis à infecção por *R. nana*, pelo que se considera a himenolepirose/rodentolepirose uma parasitose zoonótica (Baker, 2007).

Um estudo relativamente recente revelou a impossibilidade de infecção de várias estirpes laboratoriais de murganhos com isolados humanos de *R. nana*, mesmo sob condições imunossupressoras (Macnish, Morgan, Behnke, & Thompson, 2002), o que levanta novas

questões acerca da possível existência de subespécies deste parasita adaptadas exclusivamente a hospedeiros roedores e põe em causa o seu potencial zoonótico (Baker, 2007).

2.3.3 Infecção por *Rodentolepis nana* em chinchilas

A par de outros roedores, as chinchilas são também um hospedeiro definitivo de *R. nana* (Stampa & Hobson, 1966; Morrissey, 1996; Johnson, 2012; Quesenberry et al., 2012). Apesar de a infecção ser muitas vezes assintomática, elevadas cargas parasitárias podem despoletar a doença clínica, assinalada por debilidade, anorexia, diarreia, perda de peso e inclusivamente a morte (Morrissey, 1996; Quesenberry et al., 2012). Como em qualquer outra doença parasitária, os indivíduos imunocomprometidos são particularmente suscetíveis a infeções graves.

2.3.3.1 Prevalência e potencial zoonótico

Existe apenas um estudo de prevalência em chinchilas que aponta uma taxa de infecção por *R. nana* de 2,1% num total de 96 animais (Lv et al., 2009). Não obstante, na ausência de investigações que esclareçam mais detalhadamente o risco de transmissão entre o animal e o homem, o princípio da precaução apela ao bom senso no que toca à prevenção deste risco potencial.

2.3.3.2 Diagnóstico

O diagnóstico é alcançado através da observação dos ovos deste parasita nas fezes por exame direto ou através de métodos de concentração, tais como sedimentação ou flutuação em meios com elevada massa específica, como a solução de Sheather.

2.3.3.3 Tratamento e profilaxia

O tratamento desta afeção em chinchilas pode ser conseguido através da administração de praziquantel (Quesenberry et al., 2012). No que refere à profilaxia, para além de desparasitações regulares com cestocidas eficazes são também recomendados cuidados a fim de evitar a contaminação dos alimentos por insetos que poderão servir de hospedeiros intermediários e evitar o contacto direto ou indireto com outros roedores, particularmente roedores selvagens, nos quais as taxas de infecção por *R. nana* são elevadas (Baker, 2007).

2.4 OUTROS PARASITAS GASTROINTESTINAIS

Existem outros parasitas gastrointestinais passíveis de infetar as chinchilas, estes de menor importância para a saúde pública, por não apresentarem potencialidades zoonóticas, mas com faculdades igualmente nefastas para a saúde destes pequenos animais.

Dentro dos parasitas não zoonóticos das chinchilas, a espécie *Eimeria chinchillae* talvez seja o parasita mais frequente, relatando Lv et al. (2009) uma prevalência de 8,3%. É uma coccídea muito adaptada a este hospedeiro e passível de provocar enterite com diarreia aquosa

e hemorrágica, timpanismo e prolapso rectal, particularmente em animais jovens (Stampa & Hobson, 1966; Gurgel et al., 2005; Quesenberry et al., 2012). Outros protozoários que infetam as chinchilas incluem *Trichomonas* spp., ocasionalmente responsável por tiflites hemorrágicas (Griffiths, 1971; Johnson, 2012; Medeiros, 2012), e *Balantidium* spp., associado normalmente a colites hemorrágicas (Johnson, 2012).

As infecções gastrointestinais por nemátodos são muito pouco frequentes em chinchilas, estando normalmente associadas à ingestão de forragem contaminada por fezes de ruminantes entre outros animais. Nestas ocasiões, estão descritas infecções por *Haemonchus contortus*, *Ostertagia ostertagia*, *Trichostrongylus columbiformis* e também *Physaloptera* spp. (Stampa & Hobson, 1966; Boisvenue & Hendrix, 1968; Johnson, 2012).

A nível experimental, as chinchilas são ainda suscetíveis à infeção por *Nippostrongylus brasiliensis*, um tricostrongilídeo da ratazana (*Rattus norvegicus*) (Baker, 2007) e por *Taenia solium*, constituído um possível modelo de estudo para a infeção em humanos (Maravilla et al., 2011).

III. OCORRÊNCIA DE PARASITAS GASTROINTESTINAIS EM DOIS GRUPOS DE *Chinchilla lanigera* NO NORTE DE PORTUGAL

1. OBJETIVOS

Sendo este o primeiro estudo do género publicado em Portugal, a sua realização teve como principal objetivo identificar os parasitas que infetam as chinchilas na zona Norte do território nacional e respetivas taxas de infeção, de modo a avaliar de forma preliminar o seu impacto na saúde destes animais e em saúde pública, resultante da sua proximidade com o homem, visto as chinchilas poderem albergar parasitas potencialmente zoonóticos, nomeadamente *Giardia duodenalis* (assemblages A e B), *Cryptosporidium* sp. e *Rodentolepis nana*.

Este estudo teve ainda como propósito compreender melhor a relação entre a chinchila e a infeção por *Giardia* sp. através da avaliação das cargas parasitárias suportadas por animais clinicamente sãos, dados acerca dos quais, de acordo com a bibliografia compulsada, não existe informação publicada. Como objetivo complementar, foram também analisadas as sensibilidades de vários métodos laboratoriais utilizados na deteção de parasitas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAIS DE AMOSTRAGEM

A colheita de amostras foi realizada em dois grupos de criação de chinchilas para o comércio de animais de estimação existentes na área do grande Porto, entre Fevereiro e Março de 2013.

2.1.1 Grupo A

O grupo A era constituído por mais de 51 animais, 17 alojados em instalações individuais e os restantes em grupos de 2 a 4 indivíduos (média 3, mediana 2).

Os animais pertencentes ao grupo A não tinham contacto com outros para além daqueles com os quais coabitavam, exceto no momento de formação de novos pares, não participando em concursos ou exposições. Eram alimentados com feno, suspenso de uma armação esférica num canto da jaula, e ração comercial, não tendo acesso a alimentos frescos. A limpeza das instalações era realizada com frequência semanal.

Alguns meses antes da realização deste estudo foi detetado um foco de infeção por *Rodentolepis* sp., situação que foi corrigida através da administração de 10mg/kg PO q10d de praziquantel aos animais afetados, num total de três administrações. Houve também suspeitas de episódios anteriores de giardiose não confirmados laboratorialmente, mas cuja sintomatologia cessou após a administração de febendazol; a todos os animais deste grupo foram administrados 50mg/kg de febendazol, durante 3 dias consecutivos, um a três meses antes da realização da amostragem.

2.1.2 Grupo B

O grupo B era constituído por 26 animais, 5 em instalações individuais e os restantes 21 distribuídos em jaulas partilhadas por grupos de 2 a 4 animais (média 3, mediana 2); não foram fornecidas por parte do criador informações relativas às condições de manejo ou data da última desparasitação.

2.2 AMOSTRAGEM

Entre fevereiro e março de 2013 foram recolhidas um total de 44 amostras de fezes de chinchilas provenientes dos grupos de criação para o comércio de animais de estimação previamente mencionados. A amostragem teve lugar após a limpeza das instalações, procedendo-se à colheita de cerca de 2g de fezes frescas de cada jaula e subsequente refrigeração das amostras ($<4^{\circ}\text{C}$). Nenhum animal apresentava sinais de doença no momento da amostragem.

2.2.1 Grupo A

Deste grupo foram recolhidas 31 amostras, 17 amostras individuais (9 machos e 8 fêmeas) e 14 amostras conjuntas, representando estas 2 a 4 indivíduos de diferentes sexos e idades (Anexo 1, Tabela 8). Existiam três amostras para as quais não foi fornecida informação acerca do número de indivíduos nem a idade (amostras A14, A18 e A20); os restantes animais tinham idades compreendidas entre 1 mês e 5,5 anos, com idade média de 16,8 meses; com base nas amostras individuais, foram criados dois grupos etários que compreendiam os animais jovens (7 indivíduos), com idade igual ou inferior a 10 meses, e animais adultos (10 indivíduos), com idade superior à já referida.

Existiam ainda neste grupo duas fêmeas em que estava confirmada a gestação (amostras A5 e A13) e cinco crias não desmamadas (amostras A8, A12 e A16).

2.2.2 Grupo B

Foram recolhidas do grupo B 13 amostras, das quais 5 amostras individuais e 8 amostras conjuntas, representando estas 2 a 4 indivíduos (Anexo 1, Tabela 9). Existem neste grupo 8 crias repartidas por três grupos (B2, B3 e B6). Não foram fornecidas por parte do criador informações relativas à idade dos animais nem quanto à existência de fêmeas em gestação.

2.3 PROCESSAMENTO E TÉCNICAS COPROLÓGICAS

Todas as amostras foram processadas no Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV-UL entre dois a quatro dias após a sua colheita. As amostras do Grupo A foram processadas por flutuação passiva com sulfato de zinco (ZnSO_4) e por flutuação centrifugada com solução de Sheather segundo os protocolos dos Anexos 2 e 3, respetivamente. As amostras do Grupo B foram submetidas a exame direto a fresco, seguido de flutuação centrifugada com ZnSO_4 e flutuação centrifugada com solução de Sheather, utilizando-se em ambas o mesmo protocolo (Anexo 3). No exame direto foi ainda efetuada uma análise semi-quantitativa através da contagem do número de quistos presente em 20 campos de 400x de ampliação, por forma a avaliar a carga parasitária apresentada por animais saudáveis.

As técnicas utilizadas foram escolhidas com base nos trabalhos de Dryden, Payne, Ridley & Smith (2005) e Dryden, Payne & Smith (2006). A solução de Sheather, devido à sua elevada massa específica ($\sim 1,27\text{g/cm}^3$), permite a obtenção de ovos de parasitas demasiado densos para serem obtidos através de soluções de flutuação convencionais, tais como os ovos de céstodos. Por outro lado, a sua elevada osmolaridade provoca frequentemente a distorção e/ou destruição de quistos de *Giardia* sp., pelo que na pesquisa deste parasita é recomendável utilizar sulfato de zinco como solução de flutuação. No seu conjunto, as técnicas aplicadas permitem a identificação de todos os parasitas passíveis de infetar as chinchilas.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Com base nos dados fornecidos pelo criador de cada grupo foram procuradas associações entre as prevalências encontradas através das várias técnicas parasitológicas e as restantes variáveis, nomeadamente tipo de amostra, tamanho dos grupos, faixa etária e sexo. No processamento e análise estatística dos dados foram utilizados os programas Microsoft Excel® 2010 e IBM SPSS® 20. Devido ao pequeno tamanho das amostras, foi utilizado o teste de Fisher com um grau de significância de 0,05 para avaliar a existência de associações estatisticamente significativas entre diferentes variáveis. A ferramenta Epitools foi utilizada para calcular os intervalos de confiança (IC) com base nos valores de sensibilidade obtidos neste estudo.

3. RESULTADOS

3.1 GRUPO A

No total de 31 amostras pertencentes ao grupo A, o exame de flutuação centrifugada com solução de Sheather revelou a presença de quistos de *Giardia* sp. em 32,3% das amostras (10/31) e a flutuação passiva com ZnSO_4 resultou numa taxa de infeção pelo mesmo parasita

de 12,9% (4/31) (Tabela 10). Para além dos quistos de *Giardia* sp., não foram identificadas outras formas parasitárias em nenhuma das duas provas efetuadas.

Tabela 3 - Comparação das prevalências de *Giardia* sp. observadas no grupo A através dos métodos de flutuação passiva com sulfato de zinco e flutuação centrifugada com solução de Sheather.

Identificação da amostra	Flutuação passiva ZnSO ₄	Flutuação centrifugada Sheather
A1	Negativo	Negativo
A2	Negativo	Negativo
A3	Negativo	Negativo
A4	Negativo	POSITIVO
A5	Negativo	Negativo
A6	Negativo	Negativo
A7	Negativo	POSITIVO
A8	Negativo	POSITIVO
A9	Negativo	POSITIVO
A10	Negativo	Negativo
A11	POSITIVO	POSITIVO
A12	Negativo	Negativo
A13	POSITIVO	POSITIVO
A14	POSITIVO	POSITIVO
A15	Negativo	Negativo
A16	Negativo	POSITIVO
A17	Negativo	Negativo
A18	Negativo	Negativo
A19	Negativo	Negativo
A20	Negativo	Negativo
A21	Negativo	Negativo
A22	Negativo	Negativo
A23	Negativo	Negativo
A24	Negativo	Negativo
A25	Negativo	Negativo
A26	Negativo	Negativo
A27	Negativo	POSITIVO
A28	Negativo	Negativo
A29	Negativo	Negativo
A30	Negativo	Negativo
A31	POSITIVO	POSITIVO

3.1.1 Prevalência por tipo de amostra

Dentro do total de amostras positivas, 6 correspondem a amostras conjuntas e 4 a amostras individuais (Tabela 3), correspondendo a prevalências de 42,9% (6/14) entre os animais que vivem em grupo e 23,5% (4/17) em animais isolados; no entanto, não foi encontrada uma associação estatisticamente relevante entre estas variáveis ($p>0,05$).

Tabela 4 – Prevalência de *Giardia* sp. por tipo de amostra (%).

	Amostras individuais	Amostras conjuntas	Total
Positivo (prevalência)	4 (23,5%)	6 (42,9%)	10
Negativo	13	8	21
Total	17	14	31

3.1.2 Prevalência por grupo etário

Ao analisar os resultados obtidos entre as amostras individuais, revelou-se que todas as amostras positivas pertencem a animais jovens (Tabela 4), existindo uma óbvia associação entre o grupo etário e a prevalência de *Giardia* sp. ($p=0.015$), sendo os animais mais jovens mais suscetíveis à infecção.

Tabela 5 – Prevalência de *Giardia* sp. por grupo etário (amostras individuais) (%).

	Jovens	Adultos	Total
Positivo (prevalência)	4 (57,1%)	0	10
Negativo	3	10	21
Total	7	10	31

3.1.3 Prevalência por sexo

As diferenças de prevalência observadas entre indivíduos de ambos os sexos, com 11,1% (1/9) entre os machos e 37,5% (3/8) entre as fêmeas (Tabela 5), também não foram consideradas estatisticamente relevantes ($p>0,05$).

Tabela 6 – Prevalência de *Giardia* sp. por sexo (amostras individuais) (%).

	Machos	Fêmeas	Total
Positivo (prevalência)	1 (11,1%)	3 (37,5%)	4
Negativo	8	5	13
Total	9	8	17

3.2 GRUPO B

No grupo B foram igualmente detetados quistos de *Giardia* sp. em prevalências de 92,3% (12/13) em exame direto, 69,2% (9/13) em flutuação centrifugada com ZnSO_4 e 84,6% (11/13) na flutuação centrifugada com solução de Sheather (Tabela 6).

Tabela 7 – Comparação das prevalências de *Giardia* sp. observadas no grupo B através dos métodos de exame direto, flutuação centrifugada com sulfato de zinco e flutuação centrifugada com solução de Sheather e respetiva carga parasitária da amostra.

Identificação da amostra	Exame Direto	Flutuação ZnSO ₄	Flutuação Sheather	Quistos/campo
B1	POSITIVO	Negativo	POSITIVO	0,30
B2	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	2,85
B3	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	1,35
B4	Negativo	Negativo	Negativo	-
B5	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	0,90
B6	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	0,90
B7	POSITIVO	Negativo	Negativo	0,15
B8	POSITIVO	Negativo	POSITIVO	0,30
B9	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	0,40
B10	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	0,90
B11	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	0,35
B12	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	0,90
B13	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	0,25

3.2.1 Carga parasitária

Na semi-quantificação em exame direto executada nas amostras do grupo B foram observados 0,15 a 2,85 quistos/campo (média 0,65, desvio padrão 0,75), conforme pode ser observado na Tabela 6. Apesar de não ter sido encontrada uma relação estatística entre a carga parasitária e o tipo de amostra ou o número de indivíduos nela representado ($p>0,05$), a média de quistos por campo nas amostras individuais (0,30 quistos/campo) foi inferior à obtida nas amostras conjuntas (0,90 quistos/campo), aumentando a carga parasitária com o número de indivíduos por amostra conforme demonstrado na Tabela 7.

Tabela 8 – Comparação entre a carga parasitária por *Giardia* sp. e o número de indivíduos por amostra do grupo B.

Número de indivíduos por amostra	Média quistos/campo
1	0,30
2	0,65
3	0,90
4	2,10

As duas amostras que apresentaram maior carga parasitária, B2 e B3, com 2,85 e 1,35 quistos/campo, respetivamente, pertenciam ambas a fêmeas com três crias de cerca de uma semana de idade; no entanto não foi encontrada uma associação estatisticamente relevante entre a carga parasitária e a existência de crias ($p>0,05$). Apesar de no grupo A não ter sido realizado a um teste semi-quantitativo objetivo, através da observação de um número de quistos substancialmente maior em ambas as flutuações foi notória uma maior carga

parasitária nas amostras A11 e A13, referentes a duas jaulas com três fêmeas jovens (8 meses) e um casal cuja fêmea se encontrava gestante, respetivamente.

3.3 SENSIBILIDADE DAS TÉCNICAS COPROLÓGICAS

Considerando-se os resultados obtidos através das diferentes técnicas, o exame direto revelou-se o teste mais sensível para a deteção de *Giardia* em fezes de chinchila; a flutuação centrifugada com solução de Sheather foi a segunda melhor técnica do grupo, com uma sensibilidade 8,3% inferior à do exame direto, e a flutuação centrifugada com ZnSO₄ revelou uma sensibilidade 25% inferior à da primeira técnica. Quando comparadas as prevalências obtidas entre as várias técnicas com a carga parasitária das amostras revelou-se que existe uma associação estatisticamente relevante entre ambas, já que a sensibilidade da flutuação centrifugada com ZnSO₄ foi afetada por cargas parasitárias iguais ou inferiores a 0,30 quistos/campo ($p=0,018$); relativamente à flutuação centrifugada com solução de Sheather não foi encontrada uma relação estatística entre estas variáveis ($p>0,05$), apesar da ocorrência de um falso negativo na única amostra com 0,15 quistos/campo.

Em comparação com os resultados obtidos pela flutuação com solução de Sheather em ambos os grupos, a flutuação passiva com ZnSO₄ teve uma sensibilidade 51,1% inferior à técnica centrifugada com a mesma solução de flutuação.

3.4 VALORES REAIS DE PREVALÊNCIA

Com base nas diferenças de sensibilidade observadas entre a técnica de flutuação centrifugada com solução de Sheather e o exame direto, foi possível calcular a prevalência real do grupo A e respetivos intervalos de confiança. Assim, ao invés de 32,3%, a prevalência real de *Giardia* sp. no grupo A é de 35,2%, sendo os limites inferior e superior do intervalo de confiança (95%) 18,7% e 54,6%, respetivamente. Tendo sido obtida através da técnica mais sensível, a prevalência real do grupo B mantém-se em 92,3% (IC 95%: 65,8-99,6%).

4. DISCUSSÃO

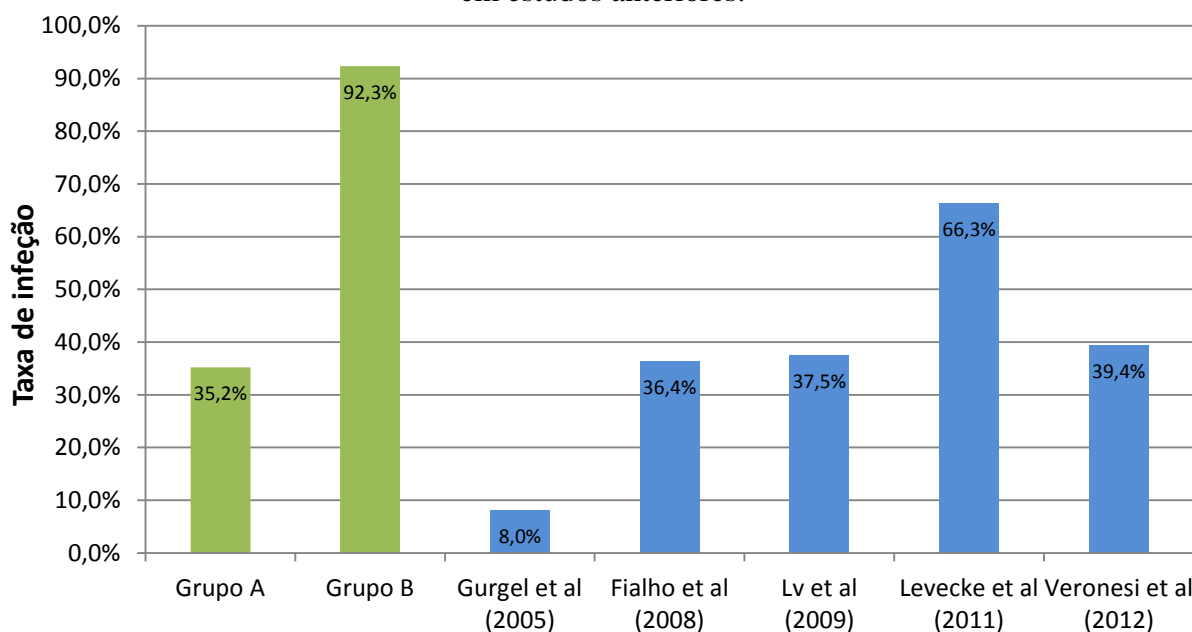
No conjunto de todas as amostras processadas apenas foi identificado o parasita *Giardia* sp., não tendo sido observadas evidências de *Cryptosporidium* sp., *Rodentolepis nana* ou outros parasitas em nenhum dos grupos de chinchilas. O facto de não terem sido observados outros parasitas revela a dimensão da infeção por *Giardia* em comparação com outros parasitas de transmissão igualmente direta. A não observação de ovos de *Rodentolepis nana* em nenhuma das amostras do grupo A confirmou a eficácia do tratamento instituído com praziquantel à dose de 10mg/kg PO q10d, num total de três administrações, na eliminação do parasita anteriormente observado neste grupo. Apesar de não ter sido utilizada nenhuma técnica específica para a identificação de *Cryptosporidium* sp. não foram observadas estruturas

compatíveis com a forma infetante deste protozoário através de nenhuma das técnicas empregadas.

4.1 PREVALÊNCIA DE *Giardia* sp.

A prevalência de *Giardia* sp. observada no grupo A (35,2%) vai ao encontro do observado por Fialho et al. (2008), através do método de flutuação centrifugada com sulfato de zinco seguida de recolha por alça do conteúdo superficial, por Lv et al. (2009), através de esfregaço fecal tingido com lugol, similar ao executado no presente estudo prático, e por Veronesi et al. (2012), através da técnica de imunofluorescência direta (Gráfico 1). No entanto, face às limitações da microscopia ótica quando comparado com ensaios imunomediado, seria expetável que, se a técnica de imunofluorescência direta tivesse sido aplicada neste estudo prático, a prevalência obtida fosse superior à mencionada por este último autor referido. Já a taxa de infeção observada no grupo B (92,3%) é muito superior às prevalências detetadas em todos os estudos anteriores, incluindo o de Levecke et al. (2011), em que foi aplicada a flutuação centrifugada com solução de Sheather.

Gráfico 1 – Comparação das prevalências obtidas neste estudo prático com aquelas obtidas em estudos anteriores.



O facto de ter sido administrado febendazol a todos os animais do grupo A algumas semanas antes do momento da amostragem, ainda que o tenha sido durante 3 dias ao invés dos 5 dias que constituem o protocolo de desparasitação para *Giardia* sp., terá certamente diminuído a taxa de infeção e/ou a excreção de quistos neste grupo, pelo que a taxa de infeção anterior à administração deste fármaco seria naturalmente maior. De igual forma, por questões práticas e à semelhança de outros estudos, a recolha das amostras teve lugar numa única ocasião e não

durante 3 dias consecutivos, o que, de acordo com Dryden et al. (2006), poderá ter mascarado uma prevalência mais alta em ambos os grupos.

Ainda assim, as diferenças observadas entre os dois grupos poderão também dever-se a distintas condições de manejo e higiene das instalações, fatores que não puderam ser avaliados neste estudo por falta de dados referentes ao grupo B, e cuja apreciação em estudos anteriores é também deficiente. Não obstante, é possível destacar uma maior frequência de animais alojados em conjunto no grupo B (61,5%) relativamente ao grupo A (45,2%), cuja eventual relevância será discutida nas seguintes linhas.

4.1.1 Prevalência por tipo de amostra

A coexistência de vários animais num espaço confinado potencia a transmissão de parasitas de ciclo direto, como é o caso da *Giardia* sp., conforme tem sido demonstrado por vários autores, entre os quais Swan e Thompson (1986) e Gookin et al. (2004); este facto justificará a maior prevalência observada nas amostras conjuntas (42,9%) face às amostras individuais (23,5%) no grupo A, apesar de não ter sido encontrada uma associação estatística entre estas variáveis. Por outro lado, o facto de existirem na mesma jaula vários animais a excretar (intermitentemente) o parasita aumenta a probabilidade de deteção do mesmo numa amostragem isolada, pelo que esta razão poderá também ter contribuído para a maior positividade observada entre as amostras conjuntas.

4.1.2 Prevalência por grupo etário

A predisposição dos animais jovens à infeção por *Giardia* sp. revelada neste estudo ($p < 0,05$) vai ao encontro do observado por Levecke et al. (2011), apesar de existirem vários outros estudos onde tal associação não foi considerada relevante (Gurgel et al., 2005; Fialho et al., 2008; Lv et al., 2009). Esta predisposição dever-se-á à menor aptidão do sistema imunitário típica dos animais imaturos que facilitará assim a prevalência da infeção nesta fase de crescimento. Em comparação, os animais adultos e saudáveis terão uma maior resistência à infeção inerente à competência do seu sistema imunitário pré-estabelecido, resultando assim em taxas de infeção inferiores.

4.1.3 Prevalência por sexo

Não foi encontrada neste estudo qualquer associação estatisticamente relevante entre o sexo e a prevalência de *Giardia* sp., a par do observado por Gurgel et al. (2005) e Lv et al. (2009).

4.2 CARGA PARASITÁRIA

4.2.1 Carga parasitária inócua

Apesar de no momento da amostragem todos os animais se apresentarem indemnes, poucos dias após a recolha das amostras do grupo B um animal apresentou subitamente sinais clínicos compatíveis com giardiose, nomeadamente diarreia e inapetência; este estava incluído na amostra conjunta B2, que compreendia uma fêmea adulta (o animal afetado) e três crias com cerca de uma semana de vida. Os resultados do processamento revelaram que esta era a amostra com maior carga parasitária do estudo, apresentando 2,85 quistos/campo. Estes dados, associados a outros não publicados pela autora, apontam para uma quantidade aceitável de 1 a 2 quistos de *Giardia* por campo (400x de ampliação) em chinchilas saudáveis; acima deste número, aumenta a predisposição para a ocorrência de giardiose (infecção clínica).

4.2.1 Carga parasitária e a gestação

As duas amostras que apresentaram maior carga parasitária no grupo B pertenciam ambas a fêmeas com três crias de cerca de uma semana de idade; também no grupo A, uma das amostras que aparentava uma maior quantidade de quistos/campo correspondia a uma fêmea gestante. Apesar de não ter sido encontrada uma associação estatisticamente relevante entre a carga parasitária e a presença ou número de crias, estas evidências, associadas à ocorrência de sinais clínicos em apenas uma das fêmeas e não nas crias, sugerem uma particular suscetibilidade por parte das fêmeas gestantes/pós-parto; é possível que, à semelhança do que ocorre em outras espécies, a imunossupressão resultante da variação nos níveis de progesterona característica deste período, avaliada nas chinchilas por Gromadzka-Ostrowska, Zalkwska, & Szylarska-Gòzdź (1985), predisponha as fêmeas gestantes ao aumento da carga parasitária por *Giardia* sp. e outros, resultando no agravamento da infeção e possível ocorrência de giardiose.

Na presença desta eventualidade, considera-se aconselhável promover um protocolo de desparasitação das fêmeas gestantes a fim de evitar os efeitos nefastos deste parasita, sendo para isso indispensável a realização de estudos ulteriores que avaliem a segurança da utilização de desparasitantes em chinchilas gestantes, assim como a melhor fase de desparasitação e a sua eficácia na prevenção da ocorrência de giardiose.

4.2 SENSIBILIDADE DAS TÉCNICAS COPROLÓGICAS

A observação de um maior número de amostras positivas a *Giardia* sp. no grupo B através do exame direto (92,3%) em comparação com os métodos de flutuação centrifugada com ZnSO₄ (69,2%) e solução de Sheather (84,6%) foi surpreendente, já que seria expectável que através

destas técnicas ocorresse a concentração dos quistos presentes numa maior quantidade de amostra. Além da destruição de quistos pela pressão osmótica provocada pelas soluções empregues nestas técnicas (Dryden et al., 2006; Mans & Donnelly, 2013), de maior significância na presença de um menor número de quistos por amostra, a menor sensibilidade das técnicas de flutuação observada associada a condições de baixa carga parasitária ($p < 0,05$) poderá ser influenciada pela elevada quantidade de fibra presente na dieta das chinchilas; mesmo após a filtração, permaneceu na maioria das amostras uma grande quantidade de matéria vegetal de pequeníssimas dimensões que, sendo boiante, poderá ter influenciado negativamente os resultados, causando a retenção de parte dos quistos e, consequentemente, levando à ocorrência de falsos-negativos nas amostras com menor carga parasitária.

Por outro lado, a menor sensibilidade da flutuação passiva com ZnSO_4 (51,1% menos sensível) quando comparada com a técnica de flutuação centrifugada era expectável e devidamente documentada por Dryden et al. (2005) e Dryden et al. (2006) na deteção de ovos de parasitas e oocistos, ainda que essa diferença não tenha sido evidenciada especificamente para o género *Giardia* em nenhum dos referidos estudos.

5. CONCLUSÃO

Como resultado deste estudo preliminar, foram observadas prevalências de *Giardia* sp. de 35,2% % (IC 95%: 18,7%-54,6%) e 92,3% (IC 95%: 65,8-99,6%) em chinchilas em território nacional, no grupo A e grupo B, respetivamente. A elevada prevalência de *Giardia* sp. evidenciada neste estudo pelo grupo B, mais elevada do que o observado em qualquer estudo anterior, enaltece o interesse de se explorar assertivamente o papel da chinchila, à luz da crescente utilização de animais exóticos como animais de companhia, na transmissão deste protozoário ao homem e a outros animais domésticos com os quais possa ter contacto direto ou indireto, como é o caso do cão, com os quais está provado poderem partilhar *assemblages* de *Giardia duodenalis*.

Por outro lado, a diferença na prevalência de giardia observada entre os dois grupos presentes neste estudo reflete a necessidade de se estudar mais aprofundadamente os fatores de risco inerentes à transmissão intraespecífica deste parasita e também a eficácia dos protocolos de desparasitação, por forma a compreender como controlar mais eficazmente a infeção por este protozoário, reduzindo não só o número de animais infetados e, consequentemente, os casos de giardiose entre eles, mas também o risco da sua transmissão zoonótica.

Ainda no grupo B, o exame direto resultou na já referida prevalência de 92,3%, revelando as flutuações centrifugadas com solução de Sheather e ZnSO_4 taxas de infeção de 84,6% e 69,2%, respetivamente. Tendo em consideração os resultados obtidos, destaca-se o exame

direto por esfregaço fecal como a técnica mais sensível entre os testes realizados neste estudo, sendo portanto a técnica recomendada para o diagnóstico de giardiose em chinchilas, possibilitando não só a observação dos quistos e/ou trofozoítos como também a semi-quantificação dos mesmos. As técnicas de concentração, nomeadamente flutuação centrifugada com ZnSO_4 ou solução de Sheather, revelaram-se ineficazes na correta avaliação da prevalência de *Giardia* sp. em chinchilas devido à ocorrência de falsos-negativos em situações de cargas parasitárias tão baixas quanto 0,3 quistos/campo.

Apesar de se poder considerar o género *Giardia* como parte da microbiota intestinal das chinchilas, em cargas parasitárias elevadas este agente pode ser nocivo e até mesmo fatal. Com base nos dados observados, recomenda-se a desparasitação de qualquer animal cuja carga parasitária seja superior a 2 quistos/campo de 400x de ampliação. Também noutras situações se deverá incutir um controlo mais ativo desta parasitose: havendo evidências que suportam a maior suscetibilidade à ocorrência de giardiose em fêmeas gestantes e predisposição à infeção por animais jovens, sugere-se a realização de investigações direcionadas à avaliação da segurança na desparasitação de chinchilas nestas condições fisiológicas assim como da sua eficácia, por forma a prevenir eventuais episódios de doença.

BIBLIOGRAFIA

- Abe, N., Tanoue, T., Noguchi, E., Ohta, G. & Sakai, H. (2010). Molecular characterization of *Giardia duodenalis* isolates from domestic ferrets. *Parasitology Research*, 106(3), 733–736.
- Alves, J.G., Silva, A.S. & Monteiro, S.G. (2008). Primeiro registro de *Cryptosporidium* sp. em *Chinchilla lanigera* no Brasil. *Revista da FZVA*, 15(1), 186–190. Acedido em Jul 9, 2013, disponível em: <http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/fzva/article/viewFile/3714/2858>
- Baker, D.G. (Ed.). (2007). *Flynn's parasites of laboratory animals*. (2nd ed.). Oxford: Blackwell Publishing.
- Bekyürek, T., Liman, N. & Bayram, G. (2002). Diagnosis of sexual cycle by means of vaginal smear method in the chinchilla (*Chinchilla lanigera*). *Laboratory Animals*, 36(1), 51–60.
- Boisvenue, R.J. & Hendrix, J.C. (1968). Susceptibility of *Chinchilla* spp. to *Haemonchus contortus*. *The Journal of Parasitology*, 54(1), 183–185.
- Brown, S. (2000). *Small Animal Health Series: Chinchillas*. Acedido a Jun. 9, 2013, disponível em <http://www.veterinarypartner.com/Content.plx?P=A&A=666>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2009). Hymenolepiasis - Diagnostic findings. *Laboratory identification of parasites of public health concern*. Acedido a Jul. 20, 2013, disponível em http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Frames/G-L/Hymenolepiasis/body_Hymenolepiasis_mic1.htm
- Centers for Disease Control and Prevention. (2010). Biology. *Parasites - Cryptosporidium*. Acedido a Jul. 11, 2013, disponível em <http://www.cdc.gov/parasites/crypto/biology.html>
- Cortés, A., Miranda, E. & Jiménez, J.E. (2002). Seasonal food habits of the endangered long-tailed chinchilla (*Chinchilla lanigera*): the effect of precipitation. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde*, 67(3), 167–175.
- Cortés, A., Rosenmann, M. & Bozinovic, F. (2000). Relación costo-beneficio en la termorregulación de *Chinchilla lanigera*. *Revista chilena de historia natural*, 73(2), 351–357.
- Cortés, A., Tirado, C. & Rosenmann, M. (2003). Energy metabolism and thermoregulation in *Chinchilla brevicaudata*. *Journal of Thermal Biology*, 28(6–7), 489–495.
- Dryden, M.W., Payne, P.A., Ridley, R. & Smith, V. (2005). Comparison of common fecal flotation techniques for the recovery of parasite eggs and oocysts. *Veterinary therapeutics: research in applied veterinary medicine*, 6(1), 15–28.
- Dryden, M.W., Payne, P.A. & Smith, V. (2006). Accurate diagnosis of *Giardia* spp and proper fecal examination procedures. *Veterinary therapeutics: research in applied veterinary medicine*, 7(1), 4–14.

- Duclos, L.M. & Richardson, D.J. (2000). Hymenolepis nana in pet store rodents. *Comparative parasitology*, 67(2), 197–201.
- Fayer, R. (2010). Taxonomy and species delimitation in Cryptosporidium. *Experimental Parasitology*, 124(1), 90–97.
- Fayer, R., Morgan, U. & Upton, S.J. (2000). Epidemiology of Cryptosporidium: transmission, detection and identification. *International Journal for Parasitology*, 30(12–13), 1305–1322.
- Feng, Y. & Xiao, L. (2011). Zoonotic potential and molecular epidemiology of giardia species and giardiasis. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(1), 110–140.
- Fernandes, A. D. P. (2012). *Parasitismo por Giardia spp. em canis de criação na região de Viseu, Portugal* (Dissertação de mestrado). Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa.
- Fialho, C.G., Oliveira, R.G., Teixeira, M.C., Marques, S.M.T., Oliveira, R.G., Oliveira, R.G. & Araújo, F.A.P. (2008). Comparação da infecção por protozoários em chinchila (Chinchilla lanigera) de uma criação comercial do município de Viamão-RS, Brasil, e de chinchilas no seu habitat natural, Chile. *Parasitología latinoamericana*, 63(1-2-3-4), 85–87.
- Garcia, L.S., Bruckner, D.A., Brewer, T.C. & Shimizu, R.Y. (1983). Techniques for the recovery and identification of Cryptosporidium oocysts from stool specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 18(1), 185–190.
- Gookin, J.L., Stebbins, M.E., Hunt, E., Burlone, K., Fulton, M., Hochel, R., Talaat, M., Poor, M. & Levy, M.G. (2004). Prevalence of and risk factors for feline tritrichomonas foetus and giardia infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(6), 2707–2710.
- Griffiths, H.J. (1971). Some common parasites of small laboratory animals. *Laboratory Animals*, 5(1), 123–135.
- Gromadzka-Ostrowska, J., Zalkwska, B. & Szylarska-Gòzdź, E. (1985). Peripheral plasma progesterone concentration and haematological indices during normal pregnancy of chinchillas (Chinchilla laniger, M.). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 82(3), 661–665.
- Gruber, H.E., Johnson, T.L., Kinsella, J.M., Greiner, E.C. & Gordon, B.E. (2001). Tapeworm identification in the fat sand rat (Psammomys obesus obesus). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 40(6), 22–24.
- Gurgel, A.C.F., Sartori, A.S. & Araújo, F.A.P. (2005). Protozoan parasites in captive chinchillas (Chinchilla lanigera) raised in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. *Parasitología latinoamericana*, 60(3-4), 186–188.
- Hendricks, C. (2002). *Animal Diversity Web: Chinchilla lanigera*. Acedido em Jun 2, 2013, disponível em http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Chinchilla_lanigera/
- Jiménez, J.E. (1996). The extirpation and current status of wild chinchillas Chinchilla lanigera and C. brevicaudata. *Biological Conservation*, 77(1), 1–6.

- Johnson, D.H. (2012). The gastrointestinal tract of the chinchilla: health and disease [versão eletrônica]. *Proceedings of the 17th American Board of Veterinary Practitioners Symposium, San Antonio, Texas, United States of America, 12-15 April 2012*. Acedido em Mar. 10, 2013, disponível em: <http://www.vin.com/Members/Proceedings/Proceedings.plx? CID=ABVP2012&Category=12537&PID=83683&O=Generic>
- Karanis, P. & Ey, P.L. (1998). Characterization of axenic isolates of *Giardia intestinalis* established from humans and animals in Germany. *Parasitology Research*, 84(6), 442–449.
- Lebbad, M., Mattsson, J.G., Christensson, B., Ljungström, B., Backhans, A., Andersson, J.O. & Svärd, S.G. (2010). From mouse to moose: Multilocus genotyping of *Giardia* isolates from various animal species. *Veterinary Parasitology*, 168(3–4), 231–239.
- Levecke, B., Meulemans, L., Dalemans, T., Casaert, S., Claerebout, E. & Geurden, T. (2011). Mixed *Giardia duodenalis* assemblage A, B, C and E infections in pet chinchillas (*Chinchilla lanigera*) in Flanders (Belgium). *Veterinary Parasitology*, 177(1–2), 166–170.
- Lucena, R.B., Giaretta, P.R., Tessele, B., Figuera, R.A., Kommers, G.D., Irigoyen, L.F. & Barros, C.S.L. (2012). Diseases of chinchilla (*Chinchilla lanigera*). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32(6), 529–535.
- Lv, C., Wang, H., Qi, M. & Zhang, L. (2009). Survey of intestinal parasites in pet Chinchilla lanigera [em chinês]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 36(5), 176–177.
- Macnish, M.G., Morgan, U.M., Behnke, J.M. & Thompson, R.C.A. (2002). Failure to infect laboratory rodent hosts with human isolates of *Rodentolepis* (= *Hymenolepis*) *nana*. *Journal of helminthology*, 76(1), 37–43.
- Mans, C. & Donnelly, T.M. (2013). Update on diseases of chinchillas. *The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice*, 16(2), 383–406.
- Maravilla, P., Garza-Rodriguez, A., Gomez-Diaz, B., Jimenez-Gonzalez, D.E., Toral-Bastida, E., Martinez-Ocaña, J., West, B., Molina, N., Garcia-Cortes, R., Kawa-Karasik, S., Romero-Valdovinos, M., Avila-Ramirez, G. & Flisser, A. (2011). Chinchilla laniger can be used as an experimental model for *Taenia solium* taeniasis. *Parasitology International*, 60(4), 364–370.
- Medeiros, V.B. (2012). Endo and ectoparasites in conventionally maintained rodents laboratory animals. *Journal of Surgical and Clinical Research*, 3(1), 27–40.
- Moodley, D., Jackson, T.F., Gathiram, V. & van den Ende, J. (1991). A comparative assessment of commonly employed staining procedures for the diagnosis of cryptosporidiosis. *South African Medical Journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde*, 79(6), 314–317.
- Morrissey, J.K. (1996). Parasites of ferrets, rabbits, and rodents. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 5(2), 106–114.
- O'Hara, S.P. & Chen, X-M. (2011). The cell biology of cryptosporidium infection. *Microbes and Infection*, 13(8–9), 721–730.

- Quesenberry, K.E., Donnelly, T.M. & Mans, C. (2012). Guinea pigs and chinchillas. In K.E. Quesenberry & J.W. Carpenter (Eds.), *Ferrets, Rabbits, and Rodents: Clinical Medicine and Surgery* (3rd ed.). (pp. 279–288). Philadelphia, US: Saunders.
- Ren, X., Zhao, J., Zhang, L., Ning, C., Jian, F., Wang, R., Lv, C., Wang, Q., Arrowood, M.J. & Xiao, L. (2012). *Cryptosporidium tyzzeri* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in domestic mice (*Mus musculus*). *Experimental Parasitology*, 130(3), 274–281.
- Soares, R.M., de Souza, S.L.P., Silveira, L.H., Funada, M.R., Richtzenhain, L.J. & Gennari, S. M. (2011). Genotyping of potentially zoonotic *Giardia duodenalis* from exotic and wild animals kept in captivity in Brazil. *Veterinary Parasitology*, 180(3–4), 344–348.
- Stampa, S. & Hobson, N.K. (1966). Control of some internal parasites of chinchillas. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 149(7), 929–932.
- Sulaiman, I.M. & Cama, V. (2006). The biology of giardia parasites. In Y. R. Ortega (Ed.), *Foodborne Parasites*. (pp. 15–32). New York, US: Springer. Acedido em Mai 19, 2013, disponível em http://link.springer.com/chapter/10.1007/0-387-31197-1_2
- Swan, J.M. & Thompson, R.C.A. (1986). The prevalence of *Giardia* in dogs and cats in Perth, Western Australia. *Australian Veterinary Journal*, 63(4), 110–112.
- Tangtrongsup, S. & Scorza, V. (2010). Update on the diagnosis and management of *Giardia* spp infections in dogs and cats. *Topics in companion animal medicine*, 25(3), 155–162.
- Valladares, P., Espinosa, M., Torres, M., Diaz, E., Zeller, N., Riva, J., Grimberg, M. & Spotorno, A. (2012). Nuevo registro de *Chinchilla chinchilla* (Rodentia, Chinchillidae) para la región de Atacama, Chile: Implicancias para su estado de conservación. *Mastozoología neotropical*, 19(1), 173–178.
- Veronesi, F., Piergili Fioretti, D., Morganti, G., Bietta, A., Moretta, I., Moretti, A. & Traversa, D. (2012). Occurrence of *Giardia duodenalis* infection in chinchillas (*Chinchilla lanigera*) from Italian breeding facilities. *Research in Veterinary Science*, 93(2), 807–810.
- Ward, M.L. (2009). Rodents: digestive system disorders. In E. Keeble & A. Meredith (Eds.), *BSAVA Manual of rodents and ferrets*. (pp. 123–144). Quedgeley: British Small Animal Veterinary Association.
- Widmer, G. & Sullivan, S. (2012). Genomics and population biology of *Cryptosporidium* species. *Parasite Immunology*, 34(2-3), 61–71.
- Xiao, L. & Fayer, R. (2008). Molecular characterisation of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. *International Journal for Parasitology*, 38(11), 1239–1255.
- Xiao, L., Fayer, R., Ryan, U. & Upton, S.J. (2004). *Cryptosporidium* taxonomy: Recent advances and implications for public health. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(1), 72–97.
- Yamini, B. & Raju, N.R. (1986). Gastroenteritis associated with a *Cryptosporidium* sp in a chinchilla. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 189(9), 1158–1159.

ANEXO 1 – CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

Tabela 9 – Caracterização das amostras do grupo A.

Identificação da amostra	Número de indivíduos	Sexo (idade em meses)	Outras informações
A1	1	Macho (18)	
A2	1	Macho (18)	
A3	1	Macho (6)	
A4	1	Fêmea (8)	
A5	2	Macho (30), Fêmea (30)	Fêmea gestante
A6	1	Fêmea (24)	
A7	1	Fêmea (8)	
A8	4	Macho (30), Fêmea (30), i/d (1,5), i/d (1,5)	Presença de 2 crias
A9	2	Macho (18), Fêmea (18)	
A10	2	Macho (48), Fêmea (48)	
A11	3	Fêmea (8), Fêmea (8)	
A12	2	Fêmea (24), Fêmea (1)	Presença de 1 cria
A13	2	Macho (10), Fêmea (66)	Fêmea gestante
A14	≥2	i/d	
A15	2	Fêmea (6), Fêmea (6)	
A16	4	Macho (24), Fêmea (24), i/d (1), i/d (1)	Presença de 2 crias
A17	3	Macho (24), Fêmea (24), Fêmea (24)	
A18	≥2	i/d	
A19	2	Macho (18), Fêmea (12)	
A20	≥2	i/d	
A21	1	Fêmea (8)	
A22	1	Macho (3)	
A23	1	Fêmea (12)	
A24	1	Macho (18)	
A25	1	Macho (12)	
A26	1	Macho (12)	
A27	1	Fêmea (10)	
A28	1	Fêmea (7)	
A29	1	Fêmea (24)	
A30	1	Macho (24)	
A31	1	Macho (7)	

i/d – informação desconhecida

Tabela 10 - Caracterização das amostras do grupo B.

Identificação da amostra	Número de indivíduos	Sexos	Outras informações
B1	2	Macho e fêmea	
B2	4	Fêmea e 3 crias	Presença de 3 crias com cerca de 1 semana
B3	4	Fêmea e 3 crias	Presença de 3 crias com cerca de 1 semana
B4	2	Macho e fêmea	
B5	2	Macho e fêmea	
B6	3	Fêmea e 2 crias	Presença de 2 crias
B7	1	Fêmea	
B8	1	Macho	
B9	2	Macho e fêmea	
B10	1	Macho	
B11	1	Macho	
B12	2	Macho e fêmea	
B13	1	Fêmea	

ANEXO 2 – PROTOCOLO DE FLUTUAÇÃO PASSIVA

1. Pesar (estimar) até 2g de fezes.
2. Misturar uma pequena quantidade de solução de flutuação e homogeneizar com o auxílio de uma vareta.
3. Verter a mistura através de uma rede de malha fina (coador) para um tubo de ensaio, enchendo-o até à formação de um menisco invertido.
4. Colocar uma lamela sobre o tubo e deixar repousar por 15 minutos.
5. Retirar a lamela e colocá-la sobre uma lâmina identificada.
6. Observar toda a área da lamela com ampliação de 100x e 400x.

ANEXO 3 – PROTOCOLO DE FLUTUAÇÃO CENTRIFUGADA EM CENTRÍFUGA DE ÂNGULO FIXO

1. Pesar (estimar) até 2g de fezes.
2. Misturar uma pequena quantidade de solução de flutuação e homogeneizar com o auxílio de uma vareta.
3. Verter a mistura através de uma rede de malha fina (coador) para um tubo de ensaio.
4. Encher o tubo de ensaio de solução de flutuação até cerca de 2cm do topo.
5. Colocar o tubo na centrífuga.
6. Centrifugar a 1200rpm durante 5 minutos.
7. Remover o tubo da centrífuga, coloca-lo em suporte de posição vertical e encher o tubo de solução de flutuação até à formação de um menisco invertido.
8. Colocar uma lamela sobre o tubo e deixar repousar por 10 minutos.
9. Retirar a lamela e colocá-la sobre uma lâmina identificada.
10. Observar toda a área da lamela com ampliação de 100x e 400x.

ANEXO 4 – IMAGENS OBTIDAS NO ESTUDO PRÁTICO

Figura 11 – Quisto de *Giardia* sp. (seta) em exame direto (400x de ampliação).
(Fonte: original).



Figura 12 – Quisto de *Giardia* sp. (seta) em exame direto (400x de ampliação).
(Fonte: original).

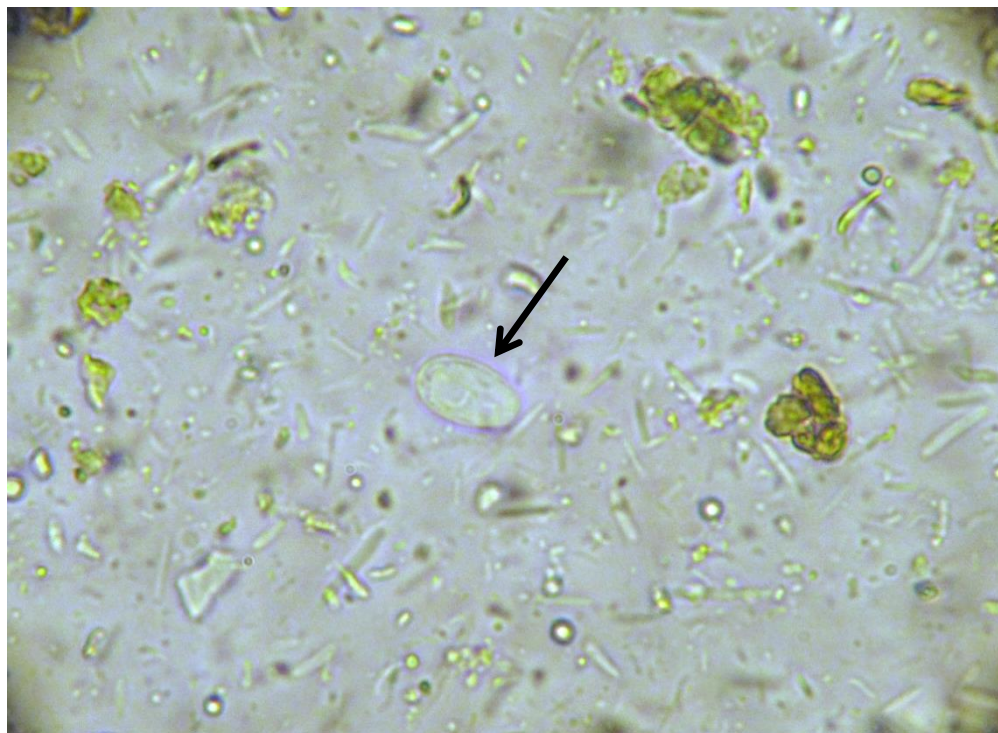


Figura 13 – Quisto de *Giardia* sp. (seta) em exame direto (400x de ampliação).
(Fonte: original).

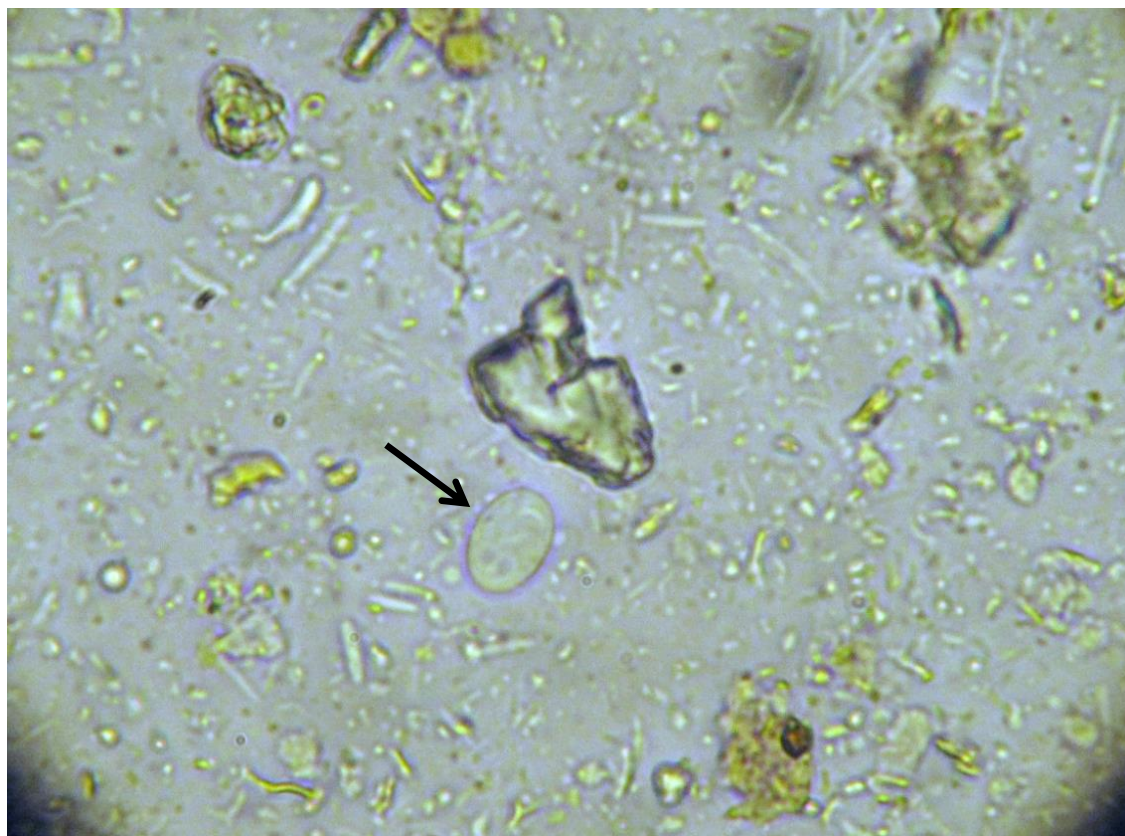


Figura 14 – Quistos deformados de *Giardia* sp. (setas) em flutuação passiva com sulfato de zinco (200x de ampliação). (Fonte: original).

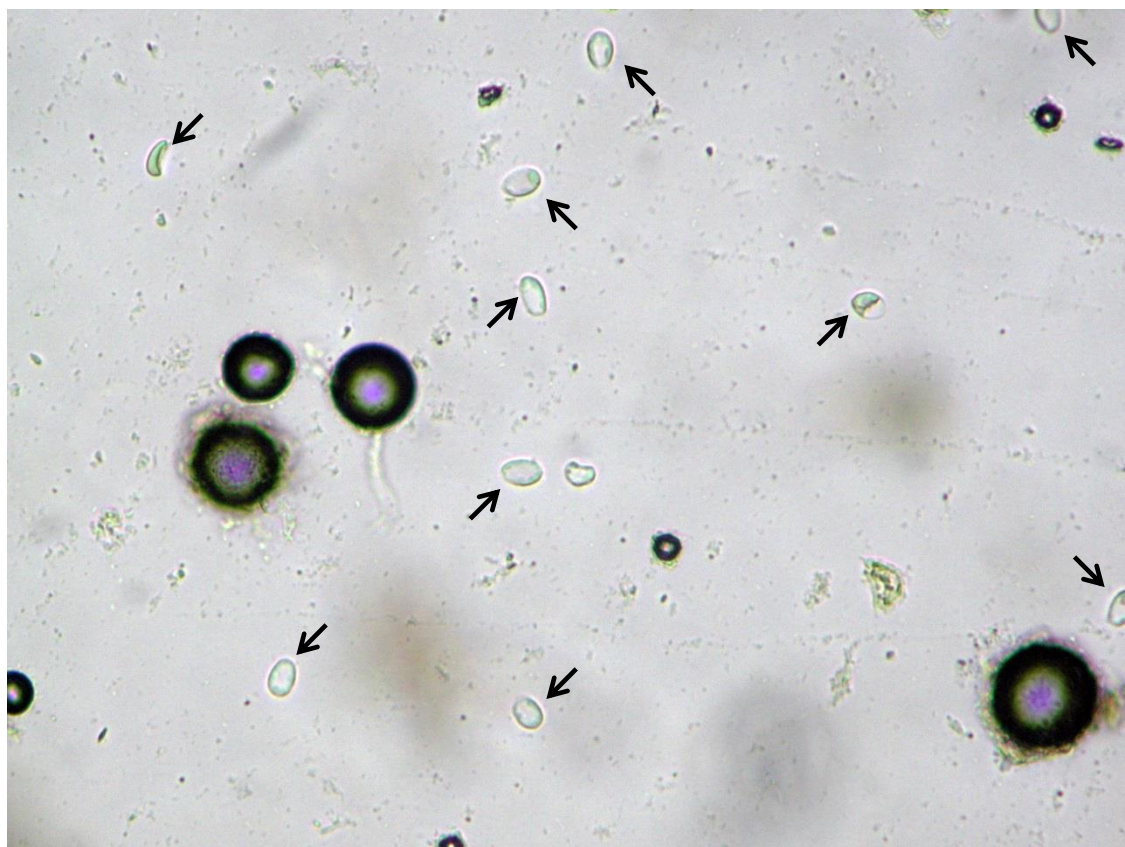


Figura 15 – Quisto deformado de *Giardia* sp. (seta) em flutuação centrifugada com solução de Sheather (400x de ampliação). (Fonte: original).

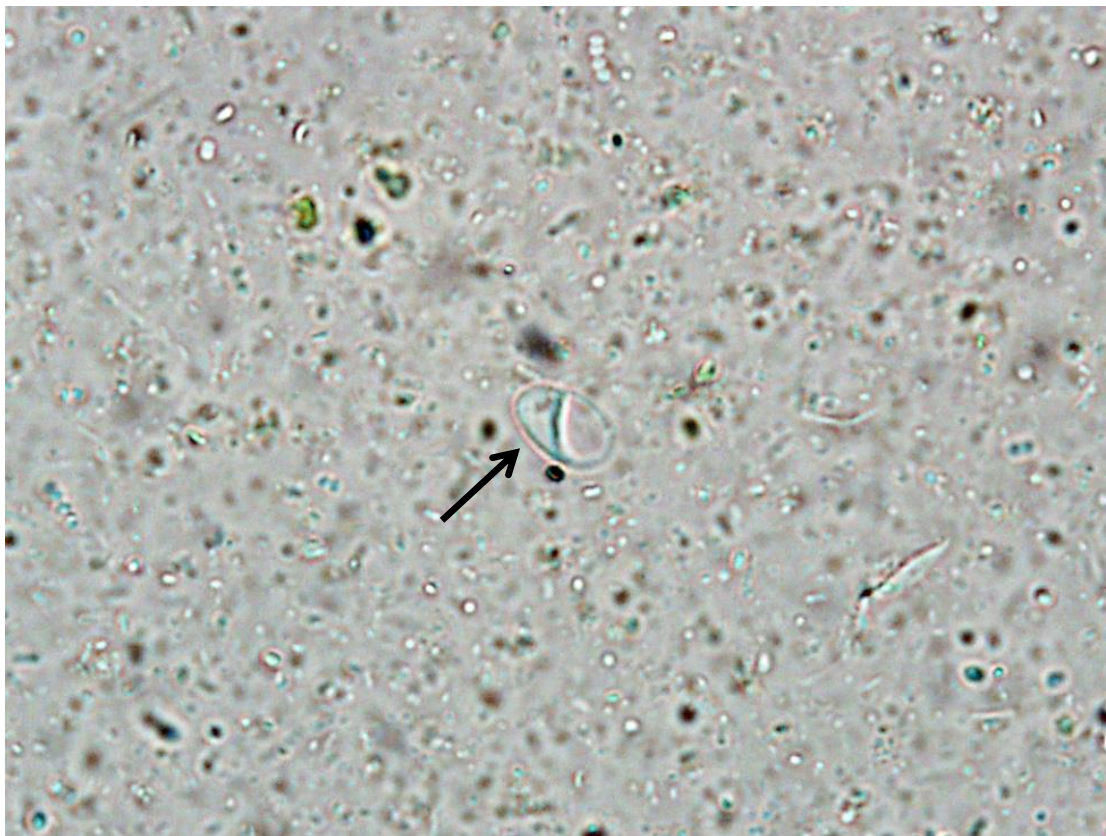


Figura 16 – Quistos de *Giardia* sp. (setas) em flutuação centrifugada com solução de Sheather (400x de ampliação). (Fonte: original).

